

Einfluß echinaceahaltiger Präparate  
auf die in vitro Phagozytose  
von mononukleären Hühnerzellen

Kurt Reifenberg

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41554619\\_0040](https://archive.org/details/IA41554619_0040)



Aus dem Institut für  
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie  
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München  
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von  
Prof. Dr. U. Lösch

Einfluß echinaceehaltiger Präparate  
auf die in vitro Phagozytose  
von mononukleären Hühnerzellen

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Kurt Reifenberg  
aus  
Osburg

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker  
-----

Referent: Prof. Dr. U. Lösch  
-----

Korreferent: Prof. Dr. H.G. Buschmann  
-----

Tag der Promotion: 27. Februar 1987  
-----

# INHALTSVERZEICHNIS

|     |                       |
|-----|-----------------------|
| 1.  | Einleitung            |
| 2.  | 1.1. Zielsetzung      |
| 3.  | 1.2. Begriffe         |
| 4.  | 1.3. Methodik         |
| 5.  | 1.4. Ergebnisse       |
| 6.  | 1.5. Diskussion       |
| 7.  | 1.6. Zusammenfassung  |
| 8.  | 2.1. Einleitung       |
| 9.  | 2.2. Zielsetzung      |
| 10. | 2.3. Begriffe         |
| 11. | 2.4. Methodik         |
| 12. | 2.5. Ergebnisse       |
| 13. | 2.6. Diskussion       |
| 14. | 2.7. Zusammenfassung  |
| 15. | 3.1. Einleitung       |
| 16. | 3.2. Zielsetzung      |
| 17. | 3.3. Begriffe         |
| 18. | 3.4. Methodik         |
| 19. | 3.5. Ergebnisse       |
| 20. | 3.6. Diskussion       |
| 21. | 3.7. Zusammenfassung  |
| 22. | 4.1. Einleitung       |
| 23. | 4.2. Zielsetzung      |
| 24. | 4.3. Begriffe         |
| 25. | 4.4. Methodik         |
| 26. | 4.5. Ergebnisse       |
| 27. | 4.6. Diskussion       |
| 28. | 4.7. Zusammenfassung  |
| 29. | 5.1. Einleitung       |
| 30. | 5.2. Zielsetzung      |
| 31. | 5.3. Begriffe         |
| 32. | 5.4. Methodik         |
| 33. | 5.5. Ergebnisse       |
| 34. | 5.6. Diskussion       |
| 35. | 5.7. Zusammenfassung  |
| 36. | 6.1. Einleitung       |
| 37. | 6.2. Zielsetzung      |
| 38. | 6.3. Begriffe         |
| 39. | 6.4. Methodik         |
| 40. | 6.5. Ergebnisse       |
| 41. | 6.6. Diskussion       |
| 42. | 6.7. Zusammenfassung  |
| 43. | 7.1. Einleitung       |
| 44. | 7.2. Zielsetzung      |
| 45. | 7.3. Begriffe         |
| 46. | 7.4. Methodik         |
| 47. | 7.5. Ergebnisse       |
| 48. | 7.6. Diskussion       |
| 49. | 7.7. Zusammenfassung  |
| 50. | 8.1. Einleitung       |
| 51. | 8.2. Zielsetzung      |
| 52. | 8.3. Begriffe         |
| 53. | 8.4. Methodik         |
| 54. | 8.5. Ergebnisse       |
| 55. | 8.6. Diskussion       |
| 56. | 8.7. Zusammenfassung  |
| 57. | 9.1. Einleitung       |
| 58. | 9.2. Zielsetzung      |
| 59. | 9.3. Begriffe         |
| 60. | 9.4. Methodik         |
| 61. | 9.5. Ergebnisse       |
| 62. | 9.6. Diskussion       |
| 63. | 9.7. Zusammenfassung  |
| 64. | 10.1. Einleitung      |
| 65. | 10.2. Zielsetzung     |
| 66. | 10.3. Begriffe        |
| 67. | 10.4. Methodik        |
| 68. | 10.5. Ergebnisse      |
| 69. | 10.6. Diskussion      |
| 70. | 10.7. Zusammenfassung |

Meinen Eltern



## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Literatur
  - 1.1. Einleitung
  - 1.2. Literatur
    - 1.2.1. Phagozytose
    - 1.2.2. Messung der Phagozytoseaktivität
      - 1.2.2.1. in vivo Phagozytostests
      - 1.2.2.2. in vitro Phagozytostests
    - 1.2.3. Phagozytoserate beeinflussende Substanzen
      - 1.2.3.1. Energieproduktion beeinflussende Substanzen
      - 1.2.3.2. Mikrofilament beeinflussende Substanzen
      - 1.2.3.3. Mikrotubuli beeinflussende Substanzen
      - 1.2.3.4. Zyklische Nukleotide beeinflussende Substanzen
      - 1.2.3.5. Kationen
      - 1.2.3.6. Osmolarität
      - 1.2.3.7. Peptide
      - 1.2.3.8. Zucker
      - 1.2.3.9. Lysozym
      - 1.2.3.10. Viren
      - 1.2.3.11. Serumstimulatoren
      - 1.2.3.12. Mikrobielle Faktoren
      - 1.2.3.13. Erythromycin
      - 1.2.3.14. Echinaceaextrakte
      - 1.2.3.15. Alkohol
2. Material und Methoden
  - 2.1. Tiermaterial
    - 2.1.1. Leghorn-Hühner
    - 2.1.2. Hühner der UM-B19-Linie
      - 2.1.2.1. dysgammaglobulinämische Hühner
      - 2.1.2.2. normogammaglobulinämische Hühner
    - 2.1.3. agammaglobulinämische Hühner
  - 2.2. Alter und Haltung
  - 2.3. Arbeits- und Testsubstanzen
  - 2.4. Inkubationskomponenten

- 2.4.1. Herstellung der mononukleären Blutzellsuspension
- 2.4.2. Herstellung der Hefezellsuspension
- 2.4.3. Herstellung der Serumpools
- 2.4.4. Herstellung der Testsubstanzverdünnung
- 2.5. Herstellung der Präparate
- 2.6. Auswertung der Präparate
- 2.7. Versuchsaufbau
- 2.7.1. Konzentrationsvorversuch
- 2.7.2. Substanzendversuch
- 2.8. Statistische Auswertung
  
- 3. Ergebnisse
- 3.1. Ergebnisse des Konzentrationsvorversuchs
- 3.1.1. NaCl-Kontrollwerte
- 3.1.1.1. Vergleich der NaCl-Kontrollwerte der einzelnen Tiergruppen (beim jeweiligen Serumpoolzusatz)
- 3.1.1.2. Tabelle I: Signifikante Differenzen zwischen den NaCl-Kontrollwerten der einzelnen Tiergruppen (beim jeweiligen Serumpoolzusatz):
- 3.1.1.3. Vergleich der NaCl-Kontrollwerte bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (innerhalb der jeweiligen Tiergruppe):
- 3.1.1.4. Tabelle II: Signifikante Differenzen zwischen den NaCl-Kontrollwerten bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (innerhalb der jeweiligen Tiergruppe)
- 3.1.2. Phagozytoseraten der einzelnen Tiergruppen bei Zugabe unterschiedlicher Konzentrationen von Influenza in wässriger Lösung
- 3.1.2.1. Zugabe von Leghorn-Serumpool
- 3.1.2.2. Zugabe von normog. Serumpool
- 3.1.2.3. Zugabe von dysg. Serumpool
- 3.1.2.4. Zugabe von agammag. Serumpool
- 3.2. Ergebnisse des Substanzendversuchs
- 3.2.1. NaCl-Kontrollwerte
- 3.2.1.1. Vergleich der NaCl-Kontrollwerte der einzelnen Tiergruppen (beim jeweiligen Serumpoolzusatz):
- 3.2.1.2. Tabelle III: Signifikante Differenzen zwischen den

- NaCl-Kontrollwerten der einzelnen Tiergruppen  
(beim jeweiligen Serumpoolzusatz)
- 3.2.1.3. Vergleich der NaCl-Kontrollwerte bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (innerhalb der jeweiligen Tiergruppe)
- 3.2.1.4. Tabelle IV: Signifikante Differenzen zwischen den NaCl-Kontrollwerten bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (innerhalb der jeweiligen Tiergruppe):
- 3.2.2. Phagozytosерaten der einzelnen Tiergruppen bei Zugabe unterschiedlicher Testsubstanzen
  - 3.2.2.1. Zugabe von Leghorn-Serumpool
  - 3.2.2.2. Zugabe von normog. Serumpool
  - 3.2.2.3. Zugabe von dysg. Serumpool
  - 3.2.2.4. Zugabe von agammag. Serumpool
- 4. Diskussion
  - 4.1. Diskussion der Methode
  - 4.2. Diskussion der Ergebnisse
    - 4.2.1. NaCl-Kontrollwerte
      - 4.2.1.1. Tiergruppeneinfluß
      - 4.2.1.2. Serumpooleinfluß
    - 4.2.2. Konzentrationsvorversuch
      - 4.2.2.1. Tiergruppeneinfluß
      - 4.2.2.2. Serumpooleinfluß
    - 4.2.3. Substanzendversuch
      - 4.2.3.1. Tiergruppeneinfluß
      - 4.2.3.2. Serumpooleinfluß
- 5. Zusammenfassung
- 6. Summary
- 7. Tabellarischer Anhang
- 8. Literaturverzeichnis

# Abkürzungsverzeichnis:

mormog. = normogammaglobulinämisch

dysg. = dysgammaglobulinämisch

agammag. = agammaglobulinämisch

## 1. Einleitung und Literatur

### 1.1. Einleitung

Mit dem als Hauptbestandteil Extrakte der Pflanze *Echinacea angustifolia* enthaltenden Präparat Influx<sup>®</sup> konnte Würdinger (1986) am hiesigen Institut nach oraler Verabreichung an immunologisch unauffällige Hühner eine deutliche Steigerung sowohl der Gesamtimmunglobulinbildung als auch der Bildung spezifischer Antikörper gegen gleichzeitig intramuskulär verabreichtes Humanserumalbumin nachweisen. Diese Influxwirkung auf die Immunglobulinbildung, also einem Immunitätsparameter, läßt nun auch eine mögliche Wirkung auf Resistenzfaktoren in Betracht ziehen. Tatsächlich konnte Klump (1986) mit dem Carbon-Clearance-Test 24 Stunden nach oraler Verabreichung von Influx<sup>®</sup> eine leichte Stimulierung der Phagozytose bei Leghorn-Hühnern, jedoch eine minimale Verminderung der Phagozytoserate bei dysgammaglobulinämischen Hühnern der Linie UM-B19 nachweisen. Im Rahmen dieser Dissertation soll nun der Einfluß von echinaceahaltigen Präparaten auf die Makrophagenphagozytose unterschiedlicher Hühnergruppen untersucht werden. Das Huhn bietet sich aus folgenden Gründen als interessantes Modell an:

1. Neben immunologisch völlig intakten Tieren stehen Tierlinien zur Verfügung, die genetische Immundefekte aufweisen (Brüggemann et al., 1967; Benedict et al., 1977). So besitzt die Universität München mit der UM-B19 Linie Hühner, bei denen unterschiedliche Immunglobulinmuster festzustellen sind. Ein Teil der Tiere zeigt verminderte bis nicht mehr nachweisbare IgG-Spiegel bei erhöhten IgM- und IgA-Werten und wird als dysgammaglobulinämisch bezeichnet. Die restlichen Tiere besitzen normale IgG- und IgM-Werte bei leicht erhöhtem IgA-Anteil und werden normogammaglobulinämisch genannt (Lösch et al., 1972; Herlyn et al., 1977; Fiedler et al., 1980; Fiedler et al., 1981; Lösch et al., 1981).
2. Mit Hilfe der sogenannten chemischen Burssektomie können Tiere produziert werden, die nicht erfassbare Immun-



globulinspiegel besitzen und als agammaglobulinämisch bezeichnet werden (Fiedler et al., 1977)

Um mögliche Opsonierungsunterschiede durch Seren der einzelnen Tiergruppen zu erfassen, wurde den jeweiligen Testansätzen unterschiedliche Tiergruppenserumpools zugesetzt. Die hohe Anzahl von Testansätzen infolge der untersuchten Beeinflussung der Phagozytose durch unterschiedliche Testsubstanzen bei Zugabe unterschiedlicher Serumpools machte ein *in vitro* Arbeiten unerlässlich. Zur Bestimmung der Phagozytoserate wurde eine direkte Methode ausgewählt, so daß die Phagozytosephasen bis zur Partikelinkorporation und nicht die daran anschließenden Stoffwechselvorgänge berücksichtigt wurden.

## 1.2.Literatur

### 1.2.1.Phagozytose

Den phylogenetisch ältesten und wichtigsten Resistenzmechanismus stellt die Phagozytose dar, worunter die Aufnahme und Vernichtung fremder inerte Partikel oder Mikroorganismen zu verstehen ist (Rolle und Mayr, 1978). Der Phagozytose der Makrophagen kommt dabei eine besondere Bedeutung zu, insofern diese Zellen auch ein unersetzbares Bindeglied zur spezifischen Immunabwehr darstellen; sie deponieren antigenes Material in einer besonders immunogenen Form an der Zelloberfläche, wo es durch Zell-zu-Zell-Kontakte an T-Helferlymphozyten präsentiert wird.

Beim Säuger sind zur Phagozytose befähigt die polymorphkernigen Phagozyten, und hier in der Hauptsache die neutrophilen Granulozyten und in weit geringerem Maß die eosinophilen Granulozyten, die mononukleären Phagozyten, also Blutmonozyten und Gewebsmakrophagen, sowie Thrombozyten (Stünzi und Weiss, 1982). Beim Vogel zeichnen sich zum einen die Thrombozyten durch eine hohe Phagozytoseaktivität aus (Cheng, 1979; Awadhiya et al., 1980; Ries, 1983), und es können weitere Phagozyten ausgemacht werden, nämlich Erythrozyten (Prunesco, 1972) und basophile Granulozyten (Ohodapkar, 1982).

Da im Rahmen dieser Dissertation mit mononukleären Zellen gearbeitet wurde, stellt sich die Frage nach der Phagozytosefähigkeit von Lymphozyten. Diese zählen zwar nicht zu den typischen Phagozyten, die Befähigung zur Phagozytose ist jedoch nicht völlig auszuschließen. So zeigen Guese et al. (1984), daß Lymphozyten teilweise Latexpartikel aufnehmen können und dieser Vorgang bei Mammakarzinompatientinnen vermehrt ist. Abo et al. (1986) weisen auf eine selektive Phagozytose gramnegativer Bakterien durch große granuläre Lymphozyten hin. Lymphoblastoide Zellen einer an chronischer myeloischer Leukämie leidender Patientin können Schaferythrozyten phagozytieren (Mitani et al., 1983) und Matsuo et al. (1986) berichten über eine Leukämie-Zelllinie mit der Fähigkeit zur Phagozytose von Polyacrylamidgel-Partikeln. Der Vorgang der Phagozytose wird in folgende drei Phasen gegliedert (Stünzi und Weiss, 1982):

- 1) Adhäsion: Die Anheftung des Phagozytosepartikels an den Phagozyten wird durch Opsonierung, d.h. durch Anlagerung von Opsonin an den Partikel, wesentlich erleichtert. Als Opsonine fungieren die Immunglobuline, und hier in der Hauptsache IgG, während IgM, IgE und IgA eine untergeordnete Rolle spielen, sowie der Komplementfaktor C3b (Dean and Jessup, 1985). Entsprechend besitzen die Phagozyten Rezeptoren für das Fc-Stück von IgG und das Komplementspaltprodukt C3b. Neben der Opsonierung spielen beim Phagozytosevorgang Oberflächeneigenschaften von Phagozytosepartikel und Phagozyt wie Hydrophobizität, Ladung und chemische Zusammensetzung (Silverstein et al., 1977; Besterman and Low, 1983) eine wichtige Rolle. Bei der Phagozytose bestimmter Partikel, wie z.B. Latex (Silverstein et al., 1977), die auch ohne vorherige Opsonierung stattfinden kann, wird zum einen diesen unspezifischen Oberflächenmechanismen eine wichtige Funktion zugesprochen, zum anderen mahnen sich aber die Hinweise dafür, daß auch hier zum Teil spezifische Rezeptoren beteiligt sind (Dean and Jessup, 1985).

2) Inkorporation: Die Inkorporation des Phagozytosepartikels wird über die Ausbildung von Pseudopodien bewerkstelligt. Richtung und Ausmaß der Membranbewegung wird durch die ständige Verfügbarkeit von Rezeptoren an der Membranoberfläche in der Art eines Reißverschlußmechanismus gesteuert (Stünzi und Weiss, 1982).

3) Abtötung und Abbau: Der Abbau des als Phagosom in der Zelle vorliegenden Partikels wird durch die Fusion des Phagosoms mit Lysosomen eingeleitet. Intrazelluläre mikrobizide Mechanismen lassen sich in sauerstoffabhängige und sauerstoffunabhängige einteilen (Vorlaender, 1983):

-sauerstoffabhängige Mechanismen: Die Phagozytose von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen ist begleitet von einem sprunghaften Anstieg des Sauerstoffverbrauchs, dem sogenannten "respiratory burst". Im Stoffwechselgeschehen der Reduktion von Sauerstoff zu Wasser werden durch partielle Reduktion Superoxidanion ( $O_2^-$ ), Wasserstoffsuperoxid ( $H_2O_2$ ) und Hydroxylradikal ( $\cdot OH$ ) gebildet. Interaktionen zwischen diesen Molekülen führen auch zur Bildung von Singulett-Sauerstoff  $^1O_2$ . Die mikrobizide Wirkung von Wasserstoffsuperoxid wird bei neutrophilen Granulozyten durch das Enzym Myeloperoxidase wesentlich gesteigert, das die Oxidation von Halogenionen in Gegenwart von  $H_2O_2$  katalysiert. Anschließend kommt es zur Halogenierung der Mikroorganismenzellwand. Dieser myeloperoxidaseabhängige Mechanismus spielt bei Makrophagen jedoch eine untergeordnete Rolle, die Wirkung wird teilweise durch Katalase ersetzt (Dean and Jessup, 1985). Sowohl bei neutrophilen Granulozyten als auch bei Makrophagen bewirken Superoxidanion, Hydroxylradikal und Singulett-Sauerstoff myeloperoxidaseunabhängig eine starke Mikrobizidie.

-sauerstoffunabhängige Mechanismen: Als sauerstoffunabhängige mikrobizide Faktoren werden der saure pH-Wert des Phagosoms und die Wirkung von Lysozym

angeführt. Die bakteriostatische Wirkung von Laktoferrin und kationische Proteine, die autolytische Bakterienzellwandenzyme aktivieren, unterstützen ebenfalls diese Mechanismen.

#### 1.2.2. Messung der Phagozytoseaktivität:

Zur Bestimmung der Phagozytoseaktivität eines Phagozyten wird dieser mit einem geeigneten Phagozytosepartikel zusammengebracht, wobei die Wahl des Phagozytosepartikels stark durch die Art der Auswertung bestimmt wird. Bei in vivo Tests muß der Partikel in den lebenden Organismus eingebracht werden.

##### 1.2.2.1. in vivo Phagozytose tests:

Die Phagozytoseaktivität von Granulozyten kann direkt an Hautfenstern gemessen werden (Smith et al., 1951). Die Funktion der hepatosplenalen Makrophagen kann durch intravenöse Verabreichung inerte Partikel wie Kohle (carbon clearance Test; Biozzi et al., 1953) oder Lipid (lipid clearance Test; Lemperle et al., 1971) überprüft werden. Die Konzentrationsabnahme dieser Partikel, die fast ausschließlich von hepatosplenalen Makrophagen aufgenommen werden, wird im Blutplasma photometrisch bestimmt.

##### 1.2.2.2. in vitro Phagozytose tests:

In vitro Phagozytose tests können in direkte und indirekte Tests eingeteilt werden:

1.2.2.2.1. direkte Phagozytose tests: Bei diesem Testverfahren wird die Aufnahme von Phagozytosepartikeln in den Phagozyten gemessen. Die weitere Untergliederung soll in Anlehnung an Klebanoff und Clark (1978) nach der Methode der Auswertung erfolgen:

-mikroskopische Methoden: Bei diesen Methoden werden nach standardisierter Inkubation von Phagozyt und Phagozytosepartikel Präparate angefertigt, die dann mikroskopisch entweder auf pro Phagozyt aufgenommene Partikelanzahl (Brandt, 1967) oder auf die Anzahl von Phagozyten, die Partikel aufgenommen haben (Hamburger, 1927), ausgezählt werden. Als Phagozytosepartikel

finden Mikroorganismen wie Bakterien (Glick, 1964) oder Hefe (Brandt, 1967), aber auch Erythrozyten Verwendung

-Isotopische Methoden: Bei diesen Methoden werden den Phagozyten radioaktiv markierte Partikel angeboten; bestimmt wird dann die Radioaktivitätsaufnahme. Als Phagozytosepartikel finden dabei Verwendung: Mikroorganismen (Verhoeff et al., 1977; Miya and Marcus, 1961; Nordenfeld, 1970), Stärke (Michell et al., 1969), Erythrozyten (Handin and Stossel, 1974), Polystyren Kugeln (Al-Ibrahim et al., 1976) und Antigen-Antikörper-Komplexe (Hallgren and Stalenheim, 1976).

-Extraktionsmethoden: Hier werden den Phagozyten Partikel angeboten, die nach erfolgter Phagozytose mit einem geeignetem Lösungsmittel aus den Zellen extrahiert und dann photometrisch bestimmt werden können. Als Phagozytosepartikel finden Latex (Polystyren oder Polyvinyltoluen; Tsan and Berlin, 1971) oder Paraffinöltröpfchen (Stossel, 1973) Verwendung.

-Abnahme von Phagozytosepartikel im Medium: MacLoe (1946) nutzt die phagozytosebedingte Abnahme der Bakterienkonzentration im Medium zur Einschätzung der Phagozytoseaktivität.

Die bisher aufgeführten Tests können nicht zwischen nur adhäsierten und tatsächlich inkorporierten Phagozytosepartikeln unterscheiden. Durch Auflösung adhäsierter Staphylokokken mit Lysostaphin (Verhoeff et al., 1977) bzw. Abwaschen von adhäsierten Paraffinöltröpfchen (Stossel et al., 1972) am Ende der Inkubationsdauer können diese Methoden zwischen Adhäsion- und Inkorporationsphase der Phagozytose unterscheiden.

1.2.2.2.indirekte Phagozytostests: Bei diesem Testtyp werden Stoffwechselvorgänge gemessen, die in engem Zusammenhang mit der Phagozytose stehen. Folgende Möglichkeiten stehen zur Verfügung:

-Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs durch den respiratory burst (Sbarra and Karnovsky, 1959)

- Messung der Chemolumineszenz von Singulett-Sauerstoff (Allen, 1977)
- Superoxid bedingte Reduktion von Nitrobleutetrazolium (Handin and Stossel, 1974)
- Messung der Myeloperoxidase-Aktivität durch Bestimmung der Jodierung phagozytierter Bakterien nach Zugabe von radioaktivem Jod zum Medium (Klebanoff und Clark, 1977)
- Mikrobizidienmessungen erfassen die durch Phagozyten abgetöteten Mikroorganismen. Die Überlebenden Bakterien können dabei durch Kultivierung (Quie et al., 1967) oder durch den Einbau radioaktiven Thymidins (Cline, 1975) erfasst werden. Arbeitet man mit Pilzen als Phagozytosepartikel, so wird eine Lebend-Tot-Färbung mit Methylenblau durchgeführt (Lehrer and Cline, 1969)
- Messung des aus Glucose-1- $^{14}\text{C}$  im Hexosemonophosphat-Zyklus gebildeten  $^{14}\text{CO}_2$  (Keusch et al., 1972; Buschmann et al., 1974).

### 1.2.3. Phagozytoserate beeinflussende Substanzen:

1.2.3.1. Energieproduktion beeinflussende Substanzen: Die für die Phagozytose benötigte Energie wird durch Glykolyse in Form von ATP zur Verfügung gestellt. Glykolyseinhibitoren wie Desoxyglucose, Jodacetat, Fluorid und Arsenit sind so in der Lage, die Phagozytose zu hemmen (Kvarstein, 1969; Boxer et al., 1977).

1.2.3.2. Mikrofilament beeinflussende Substanzen: Aus den kontraktile Proteinen Aktin und Myosin bestehende Mikrofilamente spielen eine wichtige Rolle im Phagozytosegeschehen. Cytochalasin B, das die Mikrofilamente zerstört und damit ihre Funktion unterbindet, kann über diesen Mechanismus die Phagozytose hemmen (Zurier et al., 1974). Cannarozzi und Malawista (1973) weisen darauf hin, daß geringe Cytochalasin B-Konzentrationen die Phagozytose von Humangranulozyten stimulieren; erst in höheren Konzentrationsbereichen kommt es zur Hemmung der Phagozytose.

1.2.3.3. Mikrotubuli beeinflussende Faktoren: Im Gegensatz zu

den Mikrofilamenten spielen die Mikrotubuli im Phagozytosegeschehen eine geringe Rolle (Klebanoff and Clark, 1978). Colchizin, das die Mikrotubuli-Ausbildung unterbindet, wird von einigen Autoren zwar eine phagozytosehemmende Wirkung zugesprochen (Stössel et al., 1972; Lehrer, 1973); andere Autoren können dies jedoch nicht bestätigen (Malawista and Bodel, 1967; De Chatelet et al., 1971). Vinblastin, das ebenfalls die Mikrotubuli-Bildung stört, hemmt die Phagozytose von Mäusemakrophagen (Weissmann et al., 1971).

1.2.3.4. Zyklische Nukleotide beeinflussende Faktoren: Die Phagozytose wird bei Anstieg des intrazellulären cAMP-Spiegels gehemmt, während ein erhöhter intrazellulärer cGMP-Spiegel sie stimuliert. So führen Substanzen, die in der Lage sind, die intrazelluläre cAMP-Konzentration zu erhöhen, wie Theophyllin, cAMP, Dibutyryl-cAMP und Prostaglandine, zu einer Hemmung der Phagozytose (Cox und Karnovsky, 1973). Zugabe von cGMP stimuliert jedoch die Phagozytose (Ignarro and Cech, 1976).

1.2.3.5. Kationen:  $Mg^{2+}$ - und  $Ca^{2+}$ -Ionen führen in Konzentrationen von 1-2 mM zu einer Stimulation der Phagozytose, bei höheren Konzentrationen bewirken sie eine Hemmung (Klebanoff and Clark, 1977). Divalente Kationen können an mehreren Stellen ins Phagozytosegeschehen eingreifen: zum einen spielen sie zur Opsonierung eine wichtige Rolle, insofern als  $Ca^{2+}$  für die Komplementaktivierung über den klassischen bzw.  $Mg^{2+}$  über den alternativen Weg notwendig ist, zum anderen können sie auch an mehreren Stellen in den Inkorporationsvorgang eingreifen (Klebanoff and Clark, 1978).

1.2.3.6. Osmolarität: Hypertone Salzkonzentrationen im Inkubationsmedium hemmen die Phagozytose (Lancaster and Allison, 1966).

1.2.3.7. Peptide: Eine IgG-Fraktion, die sich an autologe neutrophile Granulozyten bindet und deren Phagozytose um das zwei- bis dreifache steigert, bezeichnet Najjar (1974) als Leukokinin. Das aktive Prinzip von Leuko-

kinin ist im Fc-Stück des Immunglobulins lokalisiert und stellt ein Tetrapeptidfragment der Aminosäuresequenz L-Threonyl-L-Lysyl-L-Prolyl-L-Arginin dar (Nishioka et al., 1973). Dieses als "Tuftsin" bezeichnete Fragment ist in der Lage, die Phagozytose von Granulozyten und Makrophagen hochgradig zu stimulieren (Constantopoulos and Najjar, 1972). Watanabe et al. (1985) weisen nach oraler oder parenteraler Gabe auf eine stimulierende Wirkung der Peptide FK 156 und FK 565 auf die Phagozytoserate von Mäuseperitonealmakrophagen hin.

- 1.2.3.8. Zucker: Die hemmende Wirkung von Zuckern auf die Phagozytose (Sanchez et al., 1973) wird teilweise auf die Steigerung der Osmolarität zurückgeführt.
- 1.2.3.9. Lysozym: Physiologische Konzentrationen von Humanlysozym stimuliert die Hefezellphagozytose von neutrophilen Granulozyten (Klockars and Roberts, 1976).
- 1.2.3.10. Viren: Bestimmte Viren besitzen einen direkten antiphagozytären Effekt auf menschliche neutrophile Granulozyten (Sawyer, 1969).
- 1.2.3.11. Serumstimulatoren: Im Serum können eine Vielzahl von Substanzen isoliert werden, die unabhängig von Komplement und Immunglobulinen die Phagozytose fördern (Klebanoff and Clark, 1978). Erwähnt seien der Phagocytosis-Enhancing-Factor (PEF), der die Aufnahme vorher mit  $\gamma$ S-Antikörpern oder C3b inkubierter Erythrozyten durch Makrophagen stimuliert (Gigli et al., 1976), und das im Rattenserum entdeckte  $\alpha$ 2-Makroglobulin, das die makrophagozytäre Aufnahme inerte Partikel fördert (Blumenstock et al., 1976).
- 1.2.3.12. Mikrobielle Faktoren: Bestimmte Bakterien produzieren Toxine, die den Phagozyten direkt schädigen. So können bestimmte Streptokokkenstreptolysine und das von Staphylokokken gebildete Leukocidin die intrazytoplasmatischen Granula von Granulozyten lysieren und so zur Autolyse des Phagozyten führen (Klebanoff and Clark, 1978). Andere Mikroorganismen besitzen Ober-

flächenkomponenten, die eine Phagozytose verhindern können. Auf den Besitz solcher Komponenten beruht die Virulenz des S-Pneumokokkenstammes im Gegensatz zum R-Stamm, der einer Phagozytose nicht entgeht und so avirulent ist (Wood, 1960). Aus Mikroorganismen können jedoch auch Substanzen isoliert werden, die eine phagozytosesteigernde Wirkung besitzen. So erhöht AU 41740, ein Glycoproteinextrakt von *Klebsiella pneumoniae*, lymphozytenunabhängig die Superoxidanionfreisetzung und *Candida albicans*-Tötung bei Humanblutmonozyten (Nielsen, 1986).

- 1.2.3.13. Erythromycin: Sechs Stunden nach oraler Gabe von 1g Erythromycin kann beim Menschen eine erhöhte Phagozytoserate konstatiert werden (Fraschini et al., 1986).
- 1.2.3.14. Echinaceaextrakte: Stimpel et al. (1984) weist mit dem Chemolumineszenztest eine erhöhte Phagozytoseaktivität bei Peritoneal- und Knochenmarksmakrophagen von Mäusen durch gereinigte Polysaccharidfraktionen von *Echinacea purpurea* nach. Wagner (1983) kann die in vitro Erhöhung der Phagozytoserate von Humangranulozyten und die Stimulation der Phagozytoseleistung hepato-splener Mäusemakrophagen im carbon-clearenc-Test durch Echinaceaextrakte auf zwei saure Polysaccharide zurückführen, von denen das eine ein Heteroxylian und das andere ein Arabinorhamnogalektan darstellt. Nach mehrtägiger oraler Verabreichung des echinaceahaltigen Präparates Esberitox<sup>®</sup> an Ratten kann eine gesteigerte *Staphylococcus-aureus*-Phagozytose von Peritonealleukozyten (Beuscher et al., 1977) und neutrophiler Granulozyten (Beuscher et al., 1978) festgestellt werden. Nach einmaliger intraperitonealer Stimulation durch Esberitox<sup>®</sup> zeigen Mäuseperitonealmakrophagen am 3. Tag post applicationem eine gesteigerte *Staphylococcus-aureus*-Phagozytose (Beuscher, 1982). Möse (1983) erreicht durch tägliche intramuskuläre Injektion des echinaceahaltigen Präparates Echinacin<sup>®</sup> über einen Zeitraum von vier Tagen

eine Erhöhung der Phagozytoserate von Humangranulozyten.

1.2.3.15. Alkohol: Folgende Autoren weisen auf eine phagozytosehemmende Wirkung von Alkohol hin: Schopf et al. (1985) kann durch Alkoholkonzentrationen von 0.03% - 3% die Bildung von Sauerstoffradikalen in Granulozyten und Monozyten des Menschen hemmen. Kaninchenalveolarmakrophagen zeigen ab einer Alkoholkonzentration von 0.1% eine dosisabhängige und 60 Minuten anhaltende Suppression der Phagozytose von Latexpartikeln (Rimland und Hand, 1980). Die Verabreichung toxischer Äthanol-dosen führt bei Ratten zu einer signifikanten Depression der Clearance von mikroaggregiertem Fremdalbumin (Guarneri und Laurenzi, 1968). Im Gegensatz dazu weist Klumpp (1986) mit dem Carbon-Clearance-Test 24 Stunden nach oraler Verabreichung bei Leghorn-, dysgammaglobulinämischen und agammaglobulinämischen Hühnern eine geringe Stimulation der Phagozytose durch Alkohol nach.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Tiermaterial

Es wurde mit folgenden vier Hühnergruppen gearbeitet:

2.1.1. Leghornhühner: Es handelt sich um immunologisch intakte Tiere.

2.1.2. Hühner der UM-B19-Linie:

2.1.2.1. dysgammaglobulinämische Hühner: Diese der universitätseigenen Zuchtlinie UM-B19 entstammenden Hühner zeigen ein Serumimmunglobulinmuster mit sehr niedrigem bzw. nicht nachweisbarem IgG-Spiegel bei erhöhten IgM- und IgA-Werten (Fiedler et al., 1980). Die Dysgammaglobulinämie wurde bei jeder Blutentnahme durch immunoelektrophoretische Untersuchung (Scheidegger, 1955; Bohner, 1977) auf IgG kontrolliert.

2.2. normogammaglobulinämische Hühner: Diese ebenfalls der UM-B19 Reihe entstammenden Tiere zeigen normale IgG- und IgM-Konzentrationen bei leicht erhöhten IgA-Werten (Fiedler et al., 1980). Das Vorliegen physiologischer IgG-Werte wurde ebenfalls bei jeder Blutentnahme immunoelektrophoretisch (Scheidegger, 1955; Bohner, 1977) kontrolliert.

3. agammaglobulinämische Hühner: Diese Tiere wurden mittels chemischer Bursektomie gewonnen (Brüggemann et al., 1969). Mit Hilfe der Immunelektrophorese (Bohner, 1977) wurde gezeigt, daß keine Immunglobuline im Serum erfaßbar waren. (Zur Bursektomie werden am 3. Bebrütungstag die jeweiligen Eier mit spitzem Pol 3,7 cm tief in eine auf 5 °C abgekühlte Lösung von Testosteron in absolutem Äthanol eingetaucht. Weiterhin wird den geschlüpften Küken jeweils am 1., 2. und 3. Lebenstag je 3 mg Cyclophosphamid intramuskulär in den Oberschenkel appliziert.)

## 2.2. Alter und Haltung:

Die Tiere waren zum Zeitpunkt der Blutentnahme mindestens sechs Monate alt. Lediglich bei den agammaglobulinämischen Hühnern erfolgte die Blutentnahme infolge der geringeren Lebenserwartung früher. Die Tiere wurden auf Gitterrosten in Gruppen von 1-5 Tieren gehalten. Wasser und Futter (Altromin) standen ad libitum zur Verfügung.

## 2.3. Arbeits- und Testsubstanzen:

Liquemin<sup>®</sup>, Hoffmann La Roche AG, Schweiz

APMI 1640, ohne Glutamin mit NaHCO<sub>3</sub>, Seromed GmbH

Ficoll-Paque, Fa Pharmacia, Freiburg

Echinacea O, Steigerwald: enthält auf einen Echinacosidgehalt von 25 µg pro ml 37 Vol% Äthanol eingestellten Extrakt von Echinacea radix siccum (im Text: Echinacea in alkoholischer Lösung)

Echinacea O, nach Alkoholentzug, Steigerwald: wie oben, aber der Alkohol ist durch demineralisiertes Wasser ersetzt (im Text: Echinacea in wässriger Lösung)

Influx<sup>®</sup>-Tropfen, Steigerwald: enthalten pro 100 ml Gesamtvolumen:

|                      |    |
|----------------------|----|
| 15 ml Aconitum       | D4 |
| 10 ml Apis mellifica | D3 |
| 30 ml Echinacea      | O  |
| 30 ml Lachesis muta  | D6 |

Lösungsmittel für die Wirkstoffextrakte ist eine 37 Vol%ige Äthanol-Lösung; in 1 ml Influx sind 7.5 µg Echinacosid enthalten (im Text: Influx in alkoholischer Lösung)

Influx-Tropfen, nach Alkoholentzug, Steigerwald: wie oben, aber der Alkohol ist durch demineralisiertes Wasser ersetzt (im Text: Influx in wässriger Lösung)

## 2.4. Inkubationskomponenten:

### 2.4.1. Herstellung der mononukleären Blutzellsuspension:

Die Isolierung der mononukleären Hühnerleukozyten erfolgte über Dichtegradient-Zentrifugation (Berthold,

1981). Es werden 0,5 ml einer 1:10 mit RPMI-verdünnten Liqueamin<sup>®</sup>-Lösung in eine sterile 10 ml- Einmalspritze aufgezogen. Anschließend werden in dieselbe Spritze 6 ml Hühnerblut aus der Vena jugularis entnommen. Zur Leukozytenzählung und Plasmagewinnung für die Immunglobulin-Bestimmung) werden 1 ml des entnommenen Blutes verwendet. Die restlichen 5 ml werden mit 5 ml RPMI 1:2 verdünnt. Mit dieser Blutverdünnung werden 10 ml Ficoll-Paque in einem spitz zulaufenden Reagenzglas überschichtet. Nach Zentrifugation (18 °C, 400 g, 20 min.) können die mononukleären Zellen mit einer Pasteurpipette zwischen Ficoll-Paque und darüberstehendem Plasma abgehoben werden. Die Zellausbeute wird mit RPMI auf ein Volumen von 10 ml aufgefüllt und bei 18 °C, 10 min. lang bei 400 g zentrifugiert. Nach Abgießen des RPMI- Überstandes wird das verbleibende Leukozytenpellet noch zweimal mit 10 ml RPMI gewaschen (Zentrifugation bei 18 °C und 400 g, 10 min. lang). Anschließend werden 100 µl Zellsuspension und 900 µl Trypanblau (Lebend-Tot-Färbung) vermischt und die lebenden Leukozyten ausgezählt. Die Zellsuspension wird mit RPMI auf eine Konzentration von  $5 \times 10^6$  pro ml eingestellt.

#### 2.4.2. Herstellung der Hefezellsuspension (Brandt, 1967; Tymptner, 1981):

Gewöhnliche Bäckerhefe wird in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt und zur Zellabtötung 30 Minuten lang gekocht. Nach Abkühlung wird die Hefezellsuspension zweimal durch sterile Gaze filtriert und anschließend mit physiologischer NaCl-Lösung auf  $30 \times 10^6$  pro ml eingestellt. Die Hefezellsuspension wird portionsweise in so ausreichender Menge eingefroren, daß alle Versuche mit Suspension derselben Hefecharge gespeist werden können.

#### 2.4.3. Herstellung der Hühnerserumpools:

Es werden in notwendiger Anzahl Hühner der jeweiligen Tiergruppen (dys-, normo-, agammaglobulinämische und

Leghorn-Hühner) nach intravenöser Betäubung mit Evipan® (Wirkstoff: Hexobarbital-Natrium) durch Herzpunktion entblutet. Das Blut wird nach einstündiger Inkubation bei 37 °C zur besseren Gerinnung 24 Stunden lang bei 4 °C aufbewahrt. Das nun nach Fibrinretraktion ausgepreßte Serum wird abpipettiert und zur Entfernung letzter zellulärer Komponenten zentrifugiert. Die Individualseren werden gepoolt (dys-, normo-, agammaglobulinämischer und Leghornserumpool) und in geeigneten Portionen in so ausreichender Anzahl eingefroren, daß derselbe Serumpool alle Versuche speisen kann. Zur besseren Charakterisierung der einzelnen Serumpools wurden folgende Parameter bestimmt.

|              | Leghorn-Serumpool | normog. Serumpool | dysg. Serumpool | agammag. Serumpool |
|--------------|-------------------|-------------------|-----------------|--------------------|
| Glucose      | 330               | 290               | 300             | 185                |
| Cholesterin  | 151               | 171               | 213             | 265                |
| Gesamteiweiß | 3,7               | 4,2               | 3,7             | 3.6                |
| IgG          | 4.78              | 4.07              | u.N.            | u.N.               |
| IgA          | 0.21              | 0.54              | 0.43            | u.N.               |
| IgM          | 1.56              | 4.47              | 13.10           | u.N.               |

#### Methoden:

Glucose: Reflotest-Glucose (Boehringer)

Cholesterin: CHOD-PAP-Methode (Boehringer)

Gesamteiweiß: Biuret-Methode (Boehringer)

Ig: Rocket-Immunelektrophorese (Laurell, 1966)

#### Dimension der Messwerte:

Glucose und Cholesterin: mg/100ml

Gesamteiweiß: g/100ml

Ig: mg/ml

Erläuterungen: u.N. = unter der Nachweisgrenze von

0.01 mg/ml bei IgG und IgM bzw.

0.005 mg/ml bei IgA

#### 2.4.4. Herstellung der Testsubstanzverdünnung:

Als Parameter für die Konzentrationseinstellung diente der Echinacosidgehalt im Inkubationsansatz. Echinacea in alkoholischer Lösung wurde zunächst mit 37 Vol%igem Äthanol auf eine Echinacosidkonzentration von 7.5 ug/ml eingestellt. Dadurch war das Konzentrationsverhältnis von Alkohol und Echinacosid in den alkoholischen Ansätzen jeweils gleich. Die weiteren Verdünnungen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt.

#### 2.5. Herstellung der Präparate:

Die Herstellung der Präparate erfolgte nach Brandt (1967), modifiziert von Tympner (1981) beschrieben. In einem Polystyrolröhrchen werden die vier Inkubationskomponenten in folgenden Mengen zusammengegeben:

- a) 200 ul Substanzlösung in der entsprechenden Konzentration
- b) 200 ul mit NaCl-Lösung auf 1:5 verdünnter jeweiliger Serumpool
- c) 200 ul Hefezellsuspension (Konzentration  $30 \times 10^6$  /ml)
- d) 200 ul mononukleäre Hühnerzellsuspension (Konzentration  $5 \times 10^6$  /ml)

Dieser Inkubationsansatz wird für 15 Minuten in einem Wasserschüttelbad bei niedriger Schüttelstufe belassen. Anschließend werden 500 ul des Ansatzes auf Objektträger pipettiert, die vorher mechanisch mit einem Azeton-Äthanolgemisch (1:1) gereinigt und mit alkoholunlöslichem Stift beschriftet wurden. Die Objektträger werden zur Sedimentation der zellulären Inkubationskomponenten für 30 Minuten in eine feuchte Kammer gestellt. Nach vorsichtigem Verwerfen des Überstandes werden die Objektträger behutsam mit jeweils 2-3 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung abgetropft und anschließend bis zur Trocknung schwach gefönt. Man wartet mindestens 60 Minuten bis zur Färbung der Präparate (nach Pappenheim) in folgender Weise:

- 4 Minuten in konzentrierter May-Grünwald-Lösung
- 3 Minuten in phosphatgepuffertem destilliertem Wasser
- 13 Minuten in Giemsalösung (circa 3ml Giemsa pro 100 ml Aqua

dest)

4 Minuten in phosphatgepuffertem destilliertem Wasser

## 2.6. Auswertung der Präparate:

Die Präparate werden bei 100-facher Objektivergrößerung unter Verwendung eines Planobjektivs nach Auftropfen von Immersionsöl direkt auf den Objektträger betrachtet. Die zu erkennenden Strukturen sind zum einen Hefezellen und zum anderen Hühnerleukozytenstrukturen. Bei letzteren können einerseits Zellstrukturen unterschieden werden, bei denen Zytolyse stattfindet und die nun als Zellkerne imponieren, andererseits solche, bei denen sowohl Zyto- als auch Karyolyse eintritt, sogenannte Gumprecht- oder Kernschatten (Begemann, 1982; Pschyrembel, 1982). Zur Auszählung wurden ausschließlich Kernschatten herangezogen, die folgende Kriterien erfüllten:

- a) einzeln liegend
- b) deutlich begrenzt
- d) mindestens dreimal größer als die umliegenden Zellkerne

Erfüllt ein Kernschatten die obigen Bedingungen, ohne mit Hefezellen in Verbindung zu treten, so wird er als mononukleäre Zelle interpretiert, die nicht phagozytiert hat. Tritt ein Kernschatten jedoch mit Hefezellen in Verbindung, so werden die Hefezellen nur dann bei der Auszählung berücksichtigt, wenn sie folgende Kriterien erfüllen:

- a) Die Hefezellen müssen eindeutig an den Kernschatten angelagert sein (Vorhandensein einer Kontaktlinie zwischen Hefezelle und Kernschatten).
- b) Es werden nur eingelagerte oder direkt angelagerte Hefezellen ausgezählt. Hefezellen, die sich in der zweiten Anlagerungsreihe finden, werden nicht berücksichtigt.

Erläuternde Photos zu den Auswertungskriterien:

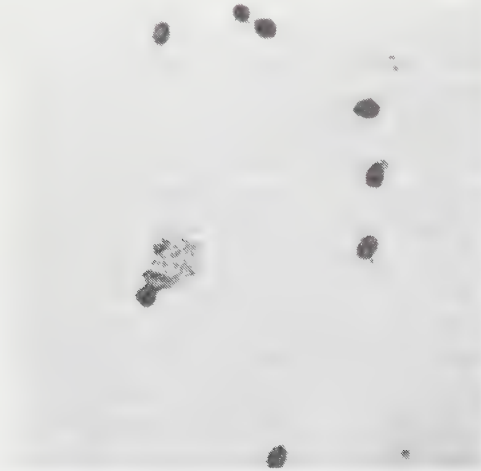


Photo 1

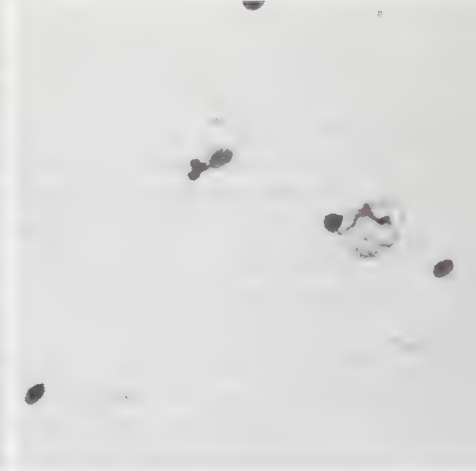


Photo 2

Photo 1 und 2 zeigen Kernschatten, die die Auswahlkriterien erfüllen, ohne mit Hefezellen in Kontakt getreten zu sein



Photo 3



Photo 4

Photo 3 und 4 zeigen Kernschatten, die die Auswahlkriterien erfüllen und mit je einer Hefezelle kontaktieren

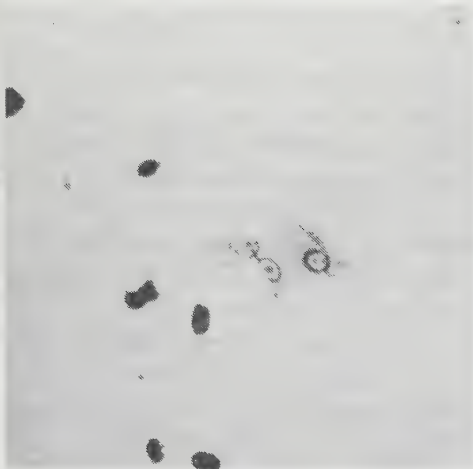


Photo 5

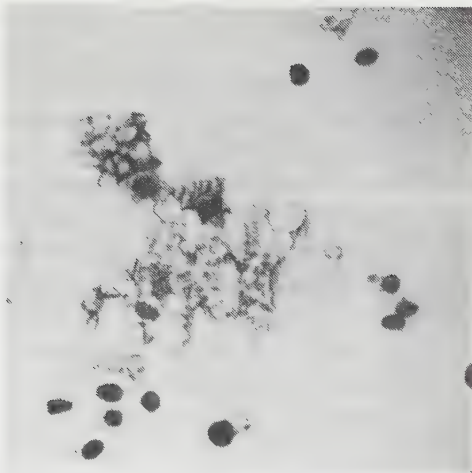


Photo 6

Photo 5 zeigt einen Kernschatten, der nicht berücksichtigt wird, da er undeutlich begrenzt ist

Photo 6 zeigt ein Kernschattenkonglomerat, das nicht berücksichtigt wird, da die Kernschatten nicht einzeln liegen

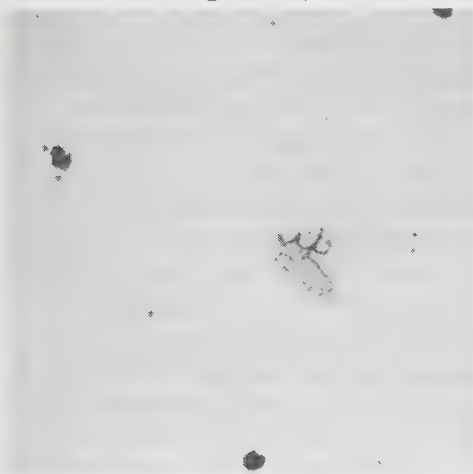


Photo 7

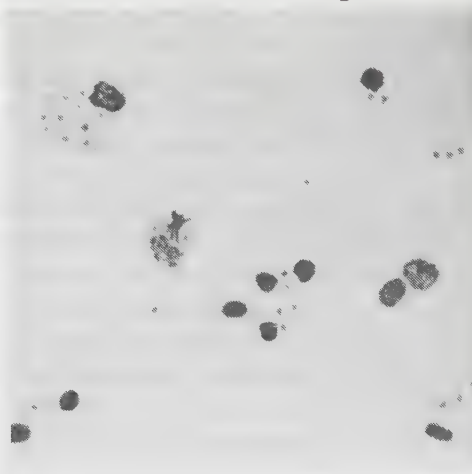


Photo 8

Photo 7 zeigt einen Kernschatten, der drei Hefezellen kontaktiert; die vierte, in zweiter Reihe befindliche Hefezelle findet keine Berücksichtigung.

Photo 8 zeigt einen Granulozyten und einen Erythrozyten.

Auf die beschriebene Art und Weise mit Kernschatten in Kontakt tretende Hefezellen werden als von der jeweiligen mononukleären Zelle phagozytierte Hefe interpretiert. Pro Präparat werden 100 Kernschatten ausgezählt und bestimmt, wie viele Hefezellen insgesamt an die ausgezählten Kernschatten angelagert waren. Der Phagozytoseindex berechnet sich folgendermaßen:

$$\text{Index} = \frac{\text{Anzahl der von 100 Kernschatten kontaktierten Hefezellen}}{100}$$

Dieser Index gibt also die pro Präparat im Durchschnitt von einem Kernschatten kontaktierte Hefezellanzahl an und wird als durchschnittlich von denjenigen mononukleären Zellen, die später als Kernschatten imponieren, im Inkubationsansatz phagozytierte Hefezellanzahl interpretiert.

## 2.7. Versuchsaufbau:

### 2.7.1. Konzentrationsvorversuch:

In dieser ersten Versuchsetappe wurden verschiedene Konzentrationen eines echinaceahaltigen Präparates bei Zellen aller Tiergruppen und unter Zugabe von normo- und dysgammaglobulinämischem sowie Leghorn-Serumpool - agammaglobulinämischer Serumpool wurde jedoch nur bei agammaglobulinämischen Tieren eingesetzt - auf ihre Phagozytosewirkung untersucht, um eine geeignete Konzentration für die nächste Versuchsreihe zu ermitteln. Im Konzentrationsvorversuch wurde mit InflueX in wässriger Lösung als Testsubstanz gearbeitet, wodurch einerseits der zu erwartende Alkoholeinfluß auf die Phagozytose zu diesem Zeitpunkt unberücksichtigt blieb, andererseits aber alle tierischen und pflanzlichen Komponenten von InflueX zur Wirkung kommen konnten. Die Konzentrationseinstellung von InflueX in wässriger Lösung erfolgte nach dem Echinacosidgehalt im Inkubationsansatz. In der höchsten Konzentrationsstufe

betrug die Echinacosidkonzentration 1  $\mu\text{g}$  pro ml Inkubationsansatz, um dann dreimal in Zehnerpotenzen verdünnt zu werden, also auf 0.1 bzw 0.01 bzw 0.001  $\mu\text{g}$  Echinacosid pro ml Inkubationsansatz. Um Echinacosidkonzentrationen von 10  $\mu\text{g}$  oder mehr pro ml Ansatz zu erreichen, hätten die zur Verfügung stehenden Influexpäparate aufkonzentriert werden müssen, was aber das Verhältnis von Alkohol zu Wirkstoffen verändert hätte. Da im Rahmen dieser Dissertation aber ein Fertigpräparat untersucht werden sollte, wurde das Verhältnis der Inhaltskomponenten nicht verändert, auf höhere Konzentrationseinstellungen also verzichtet. Um für die Bewertung der Phagozytoseraten eine Bezugsgröße zu besitzen, wurde für jede Konzentration bei jeder Tiergruppe bzw. bei jedem Serumpoolzusatz ein NaCl-Kontrollwert ermittelt, bei dem anstelle der Testsubstanz physiologische Kochsalzlösung zum Inkubationsansatz zugegeben wurde.

#### 2.7.2. Substanzendversuch:

Die Ergebnisse des Konzentrationsvorversuches berücksichtigend, wurde die Konzentrationsstufe von 0.1  $\mu\text{g}$  Echinacosid pro ml Inkubationsansatz ausgewählt, um nun im Substanzendversuch die einzelnen Testsubstanzen bei Zellen aller Tiergruppen und unter Zugabe aller Serumpools auf ihren Phagozytoseeinfluß zu untersuchen. Die echinaceahaltigen Präparate (Echinacea in wässriger Lösung, Echinacea in alkoholischer Lösung, InflueX in wässriger Lösung, InflueX in alkoholischer Lösung) wurden also auf eine Konzentration von 0.1  $\mu\text{g}$  Echinacosid pro ml Inkubationsansatz eingestellt. Bei den in Alkohol gelösten Substanzen stellt sich dann eine Alkoholkonzentration von 0.49 Vol.% im Inkubationsansatz ein. Um den Alkoholeinfluß zu isolieren, wurde jeweils ein auf eine Konzentration von 0.49 Vol.% eingestellter Alkoholkontrollwert ermittelt. Als Bezugsgröße wurde immer eine NaCl-Kontrolle bestimmt, bei der dem Inkubationsansatz anstatt der Testsubstanz

physiologische Kochsalzlösung zugegeben wurde.

#### 2.8. Statistische Auswertung:

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des T-Tests auf Signifikanz. Dabei wurden jeweils Versuchsergebnisse entsprechender Tiergruppen bzw. entsprechender Substanzen bzw. bei entsprechendem Serumpoolzusatz miteinander verglichen. Die Anzahl der Tiere pro Tiergruppe betrug jeweils 9. Im Substanzendversuch, wo die vier echinaceehaltigen Testsubstanzen sowie Alkohol- und NaCl-Kontrolle unter jeweiliger Zugabe der vier Tiergruppenserumpools untersucht wurden, ergab sich so eine Anzahl von 24 gleichzeitigen Testansätzen pro Tier.

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1. Ergebnisse des Konzentrationsvorversuchs

##### 3.1.1. NaCl-Kontrollwerte (siehe Tabelle 1):

Die NaCl-Kontrollwerte stellen diejenigen Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen ( $n \geq 9$ ) dar, bei denen statt Testsubstanz physiologische Kochsalzlösung zum Ansatz aus Hefezellen, Leukozyten und Serumpool zugegeben wurde.

3.1.1.1. Vergleich der NaCl-Kontrollwerte der einzelnen Tiergruppen (beim jeweiligen Serumpoolzusatz; siehe dazu auch Tabelle I unter 3.1.1.2. und Abb. 1):

##### 3.1.1.1.1. Zugabe von Leghorn-Serumpool:

Bei Zugabe von Leghorn-Serumpool liegen im Vergleich zu den Werten der Leghorn-Tiere die NaCl-Kontrollwerte der normog. Tiere geringfügig niedriger, die der dysg. Tiere etwas höher, die der agammag. Tiere jedoch deutlich höher. Die Phagozytoserate der agammag. Tiere ist dabei signifikant größer im Vergleich zu der von normog. und Leghorn-Tieren.

##### 3.1.1.1.2. Zugabe von normog. Serumpool:

Bei Zugabe von normog. Serumpool treten gleichartige NaCl-Kontrollwerte der einzelnen Tiergruppen auf wie bei der Zugabe von Leghorn-Serumpool: Während die Werte der normog. Hühner im Vergleich zu denen der Leghorn-Tiere niedriger liegen, sind die NaCl-Kontrollwerte der dysg. Hühner höher und die der agammag. Tiere deutlich höher. Wieder ist die Phagozytoserate der agammag. Tiere signifikant höher als die von normog. und Leghorn-Tieren.

##### 3.1.1.1.3. Zugabe von dysg. Serumpool:

Bei Zugabe von dysg. Serumpool liegen die NaCl-Kontrollwerte der normog. und der dysg. Hühner zwar höher als die der Leghorn-Tiere, bei den agammag. Tieren finden wir jedoch wiederum eine signifikante Erhöhung im Vergleich zu den normog. und Leghorn-Tieren, ja sogar im Vergleich zu den dysg. Tieren.

3.1.1.2. Tabelle I: Signifikante Differenzen zwischen den NaCl-Kontrollwerten der einzelnen Tiergruppen (beim jeweiligen Serumpoolzusatz):

| Signifikanzen zwischen<br>den Tiergruppen | Serumpoolzusatz |         |        |
|-------------------------------------------|-----------------|---------|--------|
|                                           | Leghorn         | normog. | dysg.  |
| Leghorn-normog. -Tiere                    | n.s.            | n.s.    | n.s.   |
| Leghorn-dysg. -Tiere                      | n.s.            | n.s.    | n.s.   |
| Leghorn-agammag.-Tiere                    | <0.005          | <0.01   | <0.005 |
| normog.-dysg. -Tiere                      | n.s.            | n.s.    | n.s.   |
| normog.-agammag.-Tiere                    | <0.005          | <0.005  | <0.01  |
| dysg. -agammag.-Tiere                     | n.s.            | n.s.    | <0.05  |

Erläuterungen: n.s. = nicht signifikant

3.1.1.3. Vergleich der NaCl-Kontrollwerte bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (innerhalb der jeweiligen Tiergruppe; siehe dazu Tabelle II unter 3.1.1.4. und Abb. 1):

Bezüglich unterschiedlicher Serumpoolzusätze verhalten sich die NaCl-Kontrollwerte aller Tiergruppen gleichartig. Immer ist bei Zugabe von dysg. Serumpool die Phagozytoserate signifikant niedriger als bei Zugabe von normog. und Leghorn-Serumpool. Zwischen den NaCl-Kontrollwerten bei Zugabe normog. bzw. Leghorn-Serumpools bestehen nie signifikante Unterschiede. Bei den agammag. Hühnern, bei denen im Konzentrationsvorversuch als einziger Tiergruppe agammag. Serumpool verwendet wurde, ist die Phagozytoserate bei Zugabe von agammag. Serumpool signifikant niedriger als bei Zugabe von normog. bzw. Leghorn-Serumpool.

3.1.1.4. Tabelle II: Signifikante Differenzen zwischen den NaCl-Kontrollwerten bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (innerhalb der jeweiligen Tiergruppe):

Signifikanzen bei unterschiedlichem Serumpoolzusatz

|                           | Tiergruppe |         |        |          |
|---------------------------|------------|---------|--------|----------|
|                           | Leghorn    | normog. | dysg.  | agammag. |
| Leghorn-normog. -Serump.  | n.s.       | n.s.    | n.s.   | n.s.     |
| Leghorn-dysg. -Serump.    | <0.005     | <.005   | <.005  | <0.01    |
| Leghorn-agammag. -Serump. | n.e.       | n.e.    | n.e.   | <0.005   |
| normog.-dysg. -Serump.    | <0.005     | <0.005  | <0.005 | <0.01    |
| normog.-agammag. -Serump. | n.e.       | n.e.    | n.e.   | <0.005   |
| dysg. -agammag. -Serump.  | n.e.       | n.e.    | n.e.   | n.s.     |

Erläuterungen: Serump. = Serumpool

n.s. = nicht signifikant

n.e. = nicht ermittelt, da mit agammag. Serumpool nur bei agammag. Tieren gearbeitet wurde

Abbildung 1:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - absolute NaCl-Kontrollwerte (Konzentrationsvorversuch):

Die zugehörigen Zahlenwerte finden sich in Tabelle 1.

Tiergruppen: " = Leghornhühner

+ = normogammaglobulinämische Hühner

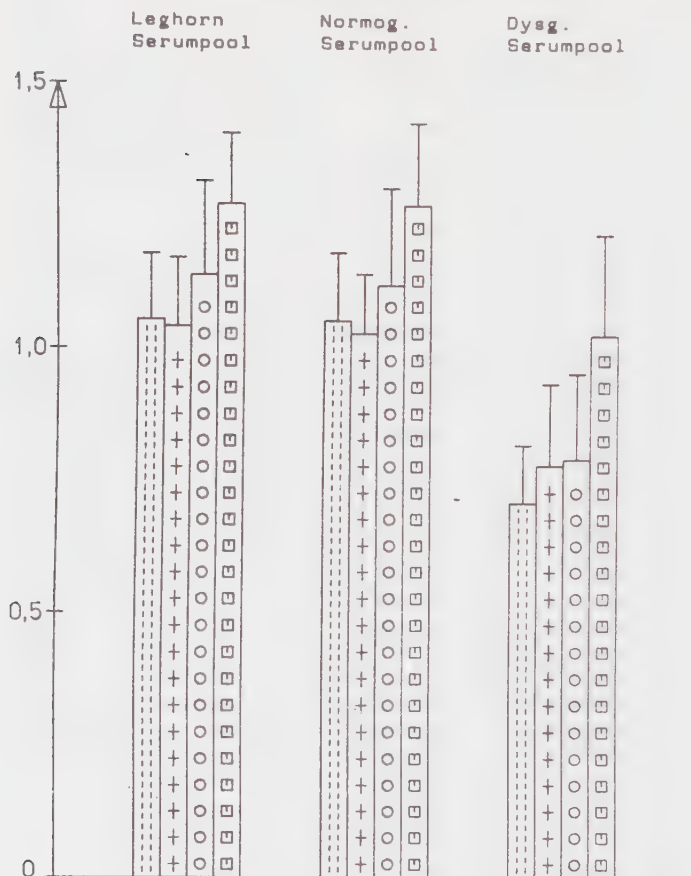
o = dysgammaglobulinämische Hühner

# = agammaglobulinämische Hühner

Serumpoolzusätze: Leghorn Serumpool

Normog. Serumpool

Dysg. Serumpool



3.1.2. Phagozytoseraten (Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten) der einzelnen Tiergruppen bei Zugabe unterschiedlicher Konzentrationen von Influenza in wässriger Lösung (siehe Tabellen 2, 3, 4 und 5):

Die Phagozytoseraten, die im folgenden Abschnitt ihre Besprechung finden, stellen absolute Differenzen zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten dar. Auch die Signifikanzberechnungen beziehen sich immer auf die zugehörigen NaCl-Kontrollwerte.

#### 3.1.2.1. Zugabe von Leghorn-Serumpool (siehe Abb. 2):

Bei Leghorn-, sowie dysg. und agammag. Hühnern führen alle Konzentrationsstufen von Influenza in wässriger Lösung stets zu einer Steigerung der Phagozytose, wobei die Phagozytoseraten mit steigender Konzentration ebenfalls ansteigen. Signifikant ist die Steigerung der Phagozytoserate bei der normog. Tiergruppe in der höchsten Konzentrationsstufe und bei der agammag. Tiergruppe in den beiden höchsten Konzentrationsstufen. Bei der dysg. Tiergruppe ist bei der niedrigsten Konzentrationsstufe zunächst ein leichter Anstieg der Phagozytose zu verzeichnen, bei der nächsthöheren Konzentrationsstufe jedoch ist sie leicht vermindert. Die beiden höchsten Konzentrationen zeigen wieder eine Steigerung der Phagozytose, die in der höchsten Konzentrationsstufe wesentlich deutlicher ausfällt.

# Abbildung 2:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten - in Abhängigkeit von der Testsubstanzkonzentration:

Die zugehörigen Zahlenwerte finden sich in Tabellen 2, 3, 4 und 5.

Serumzusatz: Leghorn-Serumpool

Tiergruppen: Leghorn-Hühner  
Normog. Hühner  
Dysg. Hühner  
Agammag. Hühner

Testsubstanzen: unterschiedliche Konzentrationen von Influenza in Wasser mit K1 = 0.001

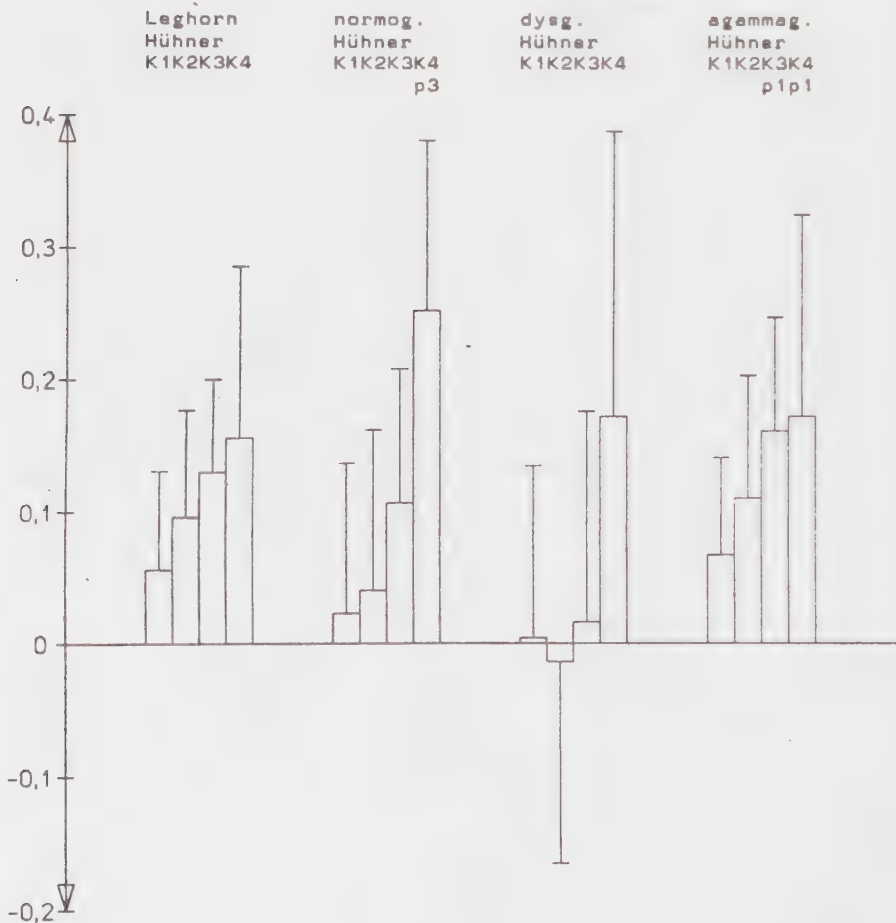
K2 = 0.01

K3 = 0.1

K4 = 1

ug Echinacosid pro ml Inkubationsansatz

p = Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit: p1:  $p < 0.05$ ; p2:  $p < 0.01$ ; p3:  $p < 0.005$



### 3.1.2.2. Zugabe von normog. Serumpool (siehe Abb. 3):

Bei Leghorn- und normog. Hühnern steigen die Phagozytoseraten mit steigender Konzentration von Influx in wässriger Lösung an, wobei bei allen Konzentrationsstufen mit Ausnahme der niedrigsten bei den normog. Tieren eine Steigerung der Phagozytoseraten zu verzeichnen ist. Bei den dysg. Tieren finden wir bei den drei niedrigsten Konzentrationsstufen eine Verminderung der Phagozytoseraten, die bei der zweiten Konzentrationsstufe am deutlichsten ausfällt; in der höchsten Konzentrationsstufe ist die Phagozytoserate jedoch erhöht. Die agammag. Tiere zeigen bei allen Konzentrationsstufen von Influx in Wasser eine gesteigerte Phagozytose, die etwa gleich stark ausfällt mit Ausnahme der dritten Konzentrationsstufe, wo die Steigerung signifikant ist.

### Abbildung 3:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten - in Abhängigkeit von der Testsubstanzkonzentration:

Die zugehörigen Zahlenwerte finden sich in Tabellen 2, 3, 4 und 5.

Serumzusatz: normogammaglobulinemischer Serumpool

Tiergruppen: Leghorn-Hühner

Normog. Hühner

Dysg. Hühner

Agammag. Hühner

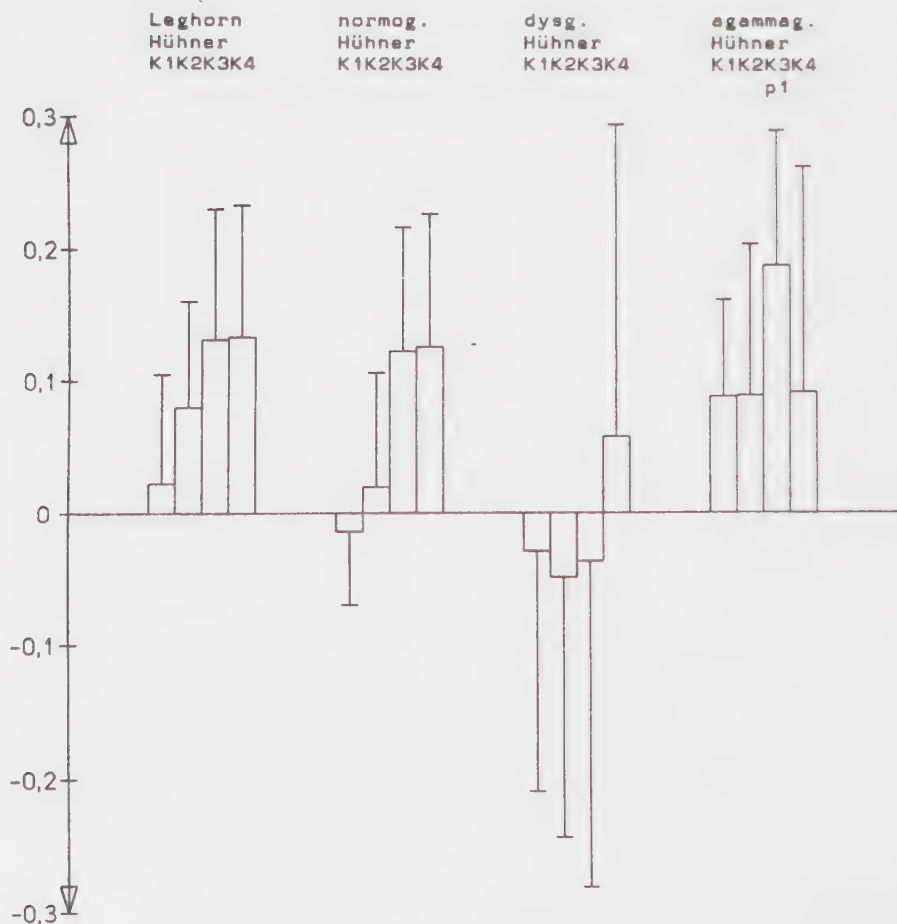
Testsubstanzen: unterschiedliche Konzentrationen von Influenza in Wasser mit K1 = 0.001

K2 = 0.01

K3 = 0.1

K4 = 1 ug Echinocid pro ml Inkubationsansatz

p = Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit: p1:  $p < 0.05$ ; p2:  $p < 0.01$ ; p3:  $p < 0.005$



### 3.1.2.3. Zugabe von dysg. Serumpool (siehe Abb. 4):

Leghorn- und normog. Hühner verhalten sich völlig gleichartig. Hier ist bei der ersten und dritten Konzentrationsstufe jeweils eine Steigerung der Phagozytoserate zu verzeichnen, die in der höheren dritten Konzentration deutlicher ausfällt. Die zweite und vierte Konzentrationsstufe zeigen dagegen eine Verminderung der Phagozytoserate, die ebenfalls in der höheren vierten Konzentration deutlicher, und zwar signifikant, ausfällt. Die dysg. Tiere zeigen bei allen Konzentrationsstufen eine Herabsetzung der Phagozytoserate, wobei die Minderung um so stärker ist, je höher die Konzentration von Influenza in wässriger Lösung beträgt und bei der höchsten Konzentrationsstufe signifikant wird. Eine Ausnahme macht die dritte Konzentrationsstufe, die die geringste Phagozytoseratenminderung aufweist. Die agammag. Tiere zeigen zunächst eine mit steigender Konzentrationsstufe zunehmend höhere Phagozytoserate, bei der höchsten Konzentration ist die Phagozytose dann jedoch deutlich herabgesetzt.

Abbildung 4:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten - in Abhängigkeit von der Testsubstanzzkonzentration:

Die zugehörigen Zahlenwerte finden sich in Tabellen 2, 3, 4 und 5.

Serumzusatz: dysgammaglobulinämischer Serumpool

Tiergruppen: Leghorn-Hühner

Normog. Hühner

Dysg. Hühner

Agammag. Hühner

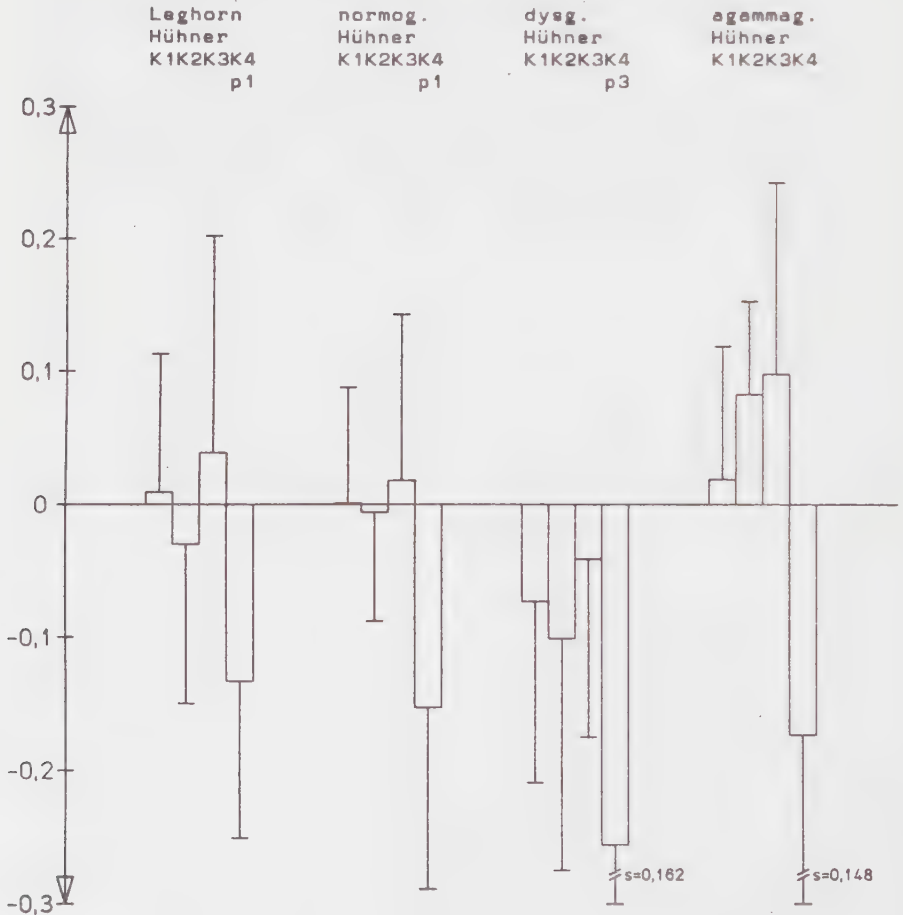
Testsubstanzen: unterschiedliche Konzentrationen von Influx in Wasser mit K1 = 0.001

K2 = 0.01

K3 = 0.1

K4 = 1 ug Echinacosid pro ml Inkubationsansatz

p = Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit: p1:  $p < 0.05$ ; p2:  $p < 0.01$ ; p3:  $p < 0.005$



#### 3.1.2.4. Zugabe von agammag. Serumpool (siehe Abb. 5):

Agammag. Serumpool wurde im Konzentrationsvorversuch nur bei der agammag. Tiergruppe zugegeben. Die Phagozytoseraten waren in allen Konzentrationsstufen gesteigert, wobei die Steigerung von der ersten zur zweiten Konzentration zunächst deutlich zunimmt, um dann jedoch kontinuierlich geringfügig abzunehmen. In der höchsten Konzentrationsstufe ist die Steigerung der Phagozytoserate aber immer noch stärker als in der niedrigsten.

Abbildung 5:

Phagozytoseraten der agemmaglobulinämischen Hühnergruppe - Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten - in Abhängigkeit von der Testsubstanzkonzentration:

Die zugehörigen Zahlenwerte finden sich in Tabelle 5.

Serumzusatz: agemmaglobulinämischer Serumpool

Tiergruppe: Agemmag. Hühner

Testsubstanzen: unterschiedliche Konzentrationen von Influx in Wasser mit K1 = 0.001

K2 = 0.01

K3 = 0.1

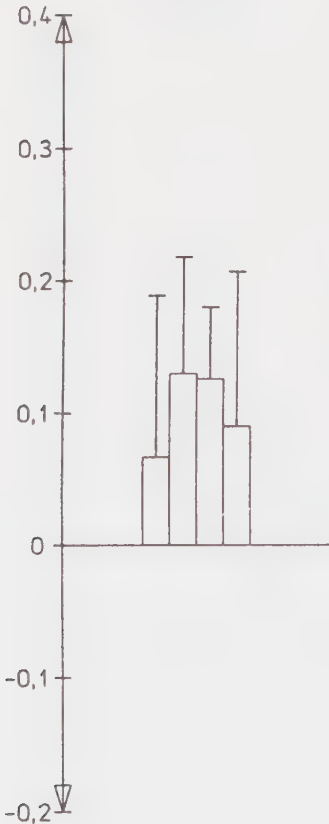
K4 = 1             $\mu$ g Echinacosid pro ml Inkubationsansatz

p = Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit: p1:  $p < 0.05$ ; p2:  $p < 0.01$ ; p3:  $p < 0.005$

agemmag.

Hühner

K1K2K3K4



### 3.2. Ergebnisse des Substanzendversuchs

#### 3.2.1. NaCl-Kontrollwerte (siehe Tabelle 6):

Auch im Substanzendversuch wurden für alle Tiergruppen (n=9) NaCl-Kontrollwerte bestimmt, d.h., den jeweiligen Ansätzen aus Hefezellen, Leukozyten und Serumpool wurde physiologische Kochsalzlösung statt Testsubstanz zugegeben.

3.2.1.1. Vergleich der NaCl-Kontrollwerte der einzelnen Tiergruppen (beim jeweiligen Serumpoolzusatz; siehe dazu Tabelle III unter 3.2.1.2. und Abb. 6).

##### 3.2.1.1.1. Zugabe von Leghorn-Serumpool:

Bei Zugabe von Leghorn-Serumpool stellen sich für die normog. Tiergruppe geringfügig niedrigere und für die dysg. Tiergruppe geringfügig höhere NaCl-Kontrollwerte ein als bei den Leghorn-Hühnern. Die Phagozytoserate der agammag. Tiere liegt jedoch deutlich höher als die der restlichen Tiergruppen. Es bestehen jedoch keine signifikanten Unterschiede.

##### 3.2.1.1.2. Zugabe von normog. Serumpool:

Bei Zugabe normog. Serumpools stellt sich bei der normog. Tiergruppe der niedrigste NaCl-Kontrollwert ein. Die Rate der dysg. Tiere liegt nur geringfügig höher, gefolgt von der der Leghorn-Hühner. Die agammag. Tiere zeigen auch hier wieder eine deutlich erhöhte Phagozytoserate im Vergleich zu den übrigen Gruppen. Auch hier können die Unterschiede nicht signifikant gesichert werden.

##### 3.2.1.1.3. Zugabe von dysg. Serumpool:

Bei Zugabe von dysg. Serumpool zeigen die dysg. Hühner den niedrigsten NaCl-Kontrollwert. Der nächsthöhere Wert stellt sich bei den normog. Tieren ein, gefolgt von der Phagozytoserate der Leghorn-Hühner. Wiederum zeigen die agammag. Tiere die deutlich höchste Phagozytoserate, wobei der Unterschied in Bezug auf normog. und dysg. Tiere signifikant ist.

##### 3.2.1.1.4. Zugabe von agammag. Serumpool:

Hier entsprechen die Ergebnisse denen bei Zugabe dysg. Serumpools. Also weisen wiederum die dysg. Tiere den niedrigsten NaCl-Kontrollwert auf, gefolgt von dem der

normog. Tiere. Der Wert der Leghorn-Hühner liegt noch etwas höher, der der agammag. Tiere ist wieder deutlich am größten. Wieder ist der NaCl-Kontrollwert der agammag. Tiere signifikant größer als der von normog. und dysg. Tieren.

3.2.1.2. Tabelle III: Signifikante Differenzen zwischen den NaCl-Kontrollwerten der einzelnen Tiergruppen (beim jeweiligen Serumpoolzusatz):

| Signifikanzen zwischen<br>den Tiergruppen | Serumpoolzusatz |         |        |          |
|-------------------------------------------|-----------------|---------|--------|----------|
|                                           | Leghorn         | normog. | dysg.  | agammag. |
| Leghorn-normog. -Tiere                    | n.s.            | n.s.    | n.s.   | n.s.     |
| Leghorn-dysg. -Tiere                      | n.s.            | n.s.    | n.s.   | n.s.     |
| Leghorn-agammag.-Tiere                    | n.s.            | n.s.    | n.s.   | n.s.     |
| normog.-dysg. -Tiere                      | n.s.            | n.s.    | n.s.   | n.s.     |
| normog.-agammag.-Tiere                    | n.s.            | n.s.    | <0.01  | <0.005   |
| dysg. -agammag.-Tiere                     | n.s.            | n.s.    | <0.005 | <0.005   |

Erläuterungen: n.s. = nicht signifikant

3.2.1.3. Vergleich der NaCl-Kontrollwerte bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (innerhalb der jeweiligen Tiergruppe; siehe dazu Tabelle IV unter 3.2.1.4. und Abb. 6):

Bezüglich unterschiedlicher Serumpoolzusätze verhalten sich die NaCl-Kontrollwerte aller Tiergruppen gleichartig. Immer ist bei Zugabe von dysg. bzw. agammag. Serumpool die Phagozytoserate signifikant niedriger als bei Zugabe von normog. und Leghorn-Serumpool. Zwischen den NaCl-Kontrollwerten bei Zugabe normog. bzw. Leghorn-Serumpools bestehen nie signifikante Unterschiede. Dasselbe gilt für die Werte bei Zugabe dysg. bzw. agammag. Serumpools.

3.2.1.4. Tabelle IV: Signifikante Differenzen zwischen den NaCl-Kontrollwerten bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (innerhalb der jeweiligen Tiergruppe):

| Signifikanzen bei unterschiedlichem Serumpoolzusatz | Tiergruppe |         |        |          |
|-----------------------------------------------------|------------|---------|--------|----------|
|                                                     | Leghorn    | normog. | dysg.  | agammag. |
| Leghorn-normog. -Serump.                            | n.s.       | n.s.    | n.s.   | n.s.     |
| Leghorn-dysg. -Serump.                              | <0.005     | <0.005  | <0.005 | <0.005   |
| Leghorn-agammag. -Serump.                           | <0.005     | <0.005  | <0.005 | <0.005   |
| normog.-dysg. -Serump.                              | <0.005     | <0.005  | <0.005 | <0.005   |
| normog.-agammag. -Serump.                           | <0.005     | <0.005  | <0.005 | <0.005   |
| dysg. -agammag. -Serump.                            | n.s.       | n.s.    | n.s.   | n.s.     |

Erläuterungen: Serump. = Serumpool

n.s. = nicht signifikant

Abbildung 6:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - absolute NaCl-Kontrollwerte (Substanzendversuch):

Die zugehörigen Zahlenwerte finden sich in Tabelle 6.

Tiergruppen: " = Leghornhühner

+ = normogammaglobulinämische Hühner

o = dysgammaglobulinämische Hühner

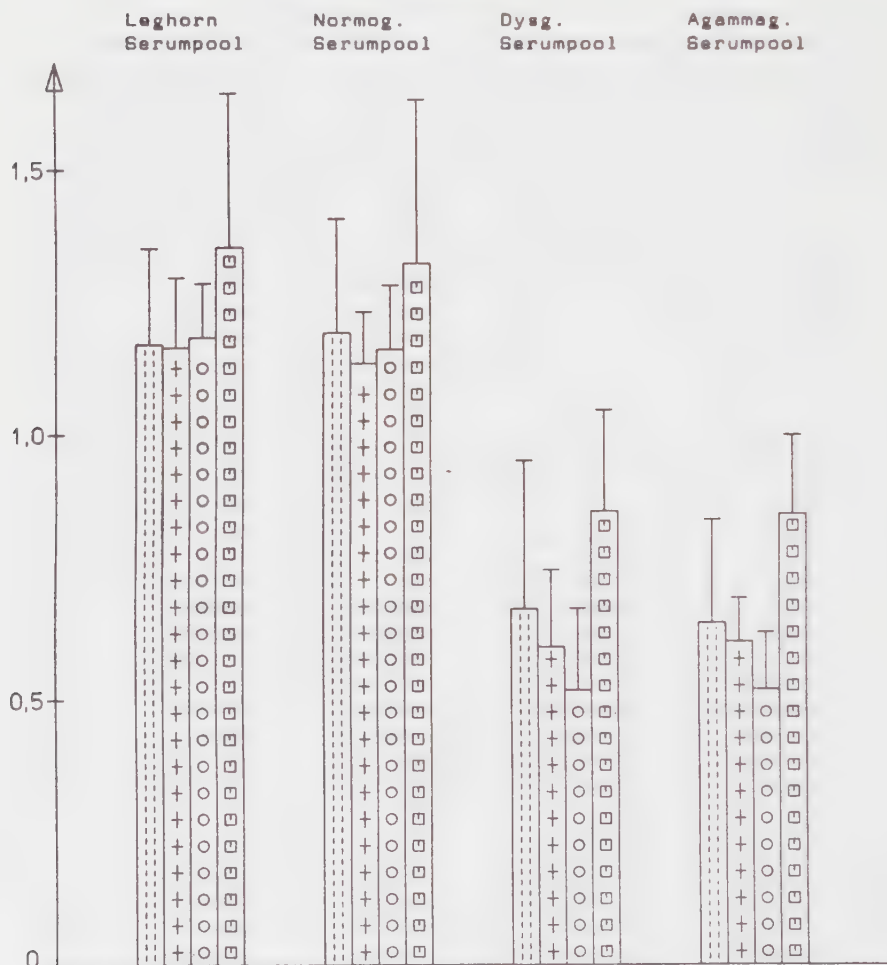
# = agammaglobulinämische Hühner

Serumpoolzusätze: Leghorn Serumpool

Normog. Serumpool

Dysg. Serumpool

Agammag. Serumpool



3.2.2. Phagozytoseraten (Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten) der einzelnen Tiergruppen bei Zugabe unterschiedlicher Testsubstanzen (siehe Tabellen 7, 8, 9 und 10):

Die Phagozytoseraten, die im folgenden Abschnitt ihre Besprechung finden, stellen absolute Differenzen zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten dar. Auch die Signifikanzberechnungen beziehen sich immer auf die zugehörigen NaCl-Kontrollwerte.

3.2.2.1. Zugabe von Leghorn-Serumpool (siehe Abb. 7):

Bei Zugabe von Leghorn-Serumpool zeigen alle Tiergruppen ein einheitliches Verhalten der Phagozytoseraten bezüglich der unterschiedlichen Testsubstanzen. Alle Testsubstanzen bewirken eine Steigerung der Phagozytoserate, wobei die Influecxpräparate immer deutlich stärker stimulieren als die Echinaceapräparate und die alkoholischen Lösungen immer deutlich stärker als die wässrigen. Die geringste Steigerung wird bei normog. und agammag. Tieren durch Alkohol und bei Leghorn- und dysg. Tieren durch Echinacea in wässriger Lösung bewirkt. Influecx in alkoholischer Lösung bewirkt bei allen Tiergruppen, Influecx in wässriger Lösung nur bei den Leghorn-Hühnern eine signifikante Erhöhung der Phagozytoseraten.

Abbildung 7:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten - bei unterschiedlichen Testsubstanzen (S1-S5):

Die zugehörigen Zahlenwerte finden sich in Tabellen 7, 8, 9 und 10.

Serumzusatz: Leghorn-Serumpool

Tiergruppen: Leghorn Hühner

Normog. Hühner

Dysg. Hühner

Agammag. Hühner

Testsubstanzen: \* = S1 = Alkohol

Y = S2 = Echinacee in wässriger Lösung

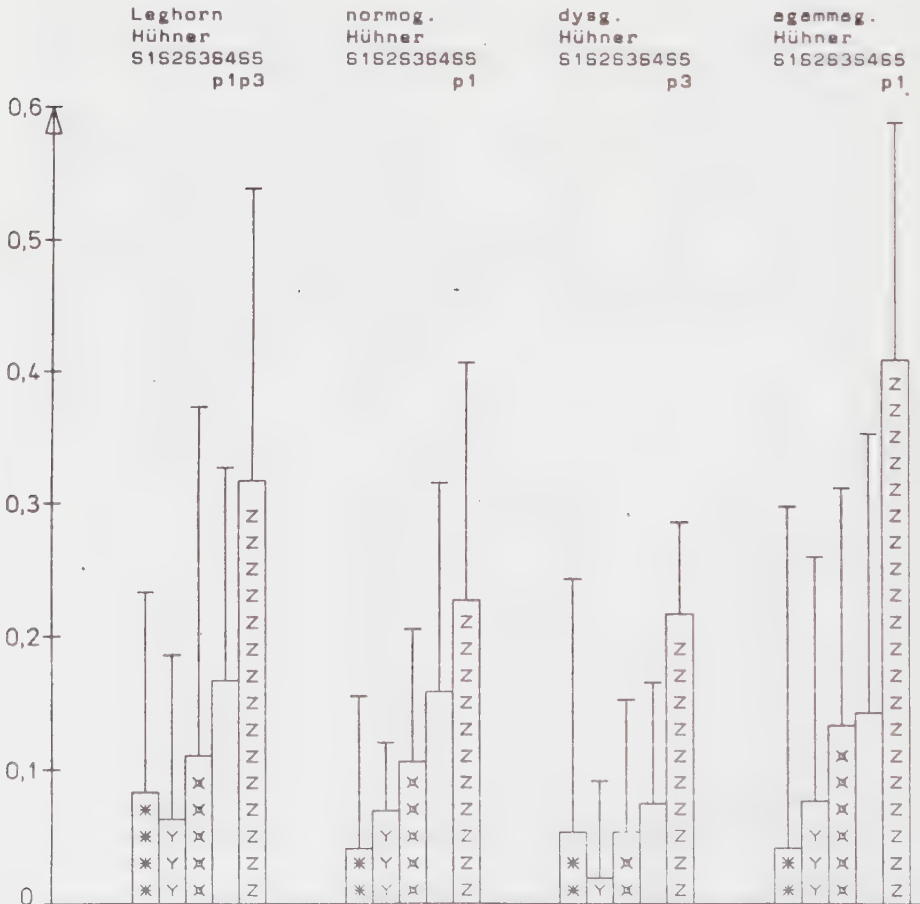
X = S3 = Echinacee in alkoholischer Lösung

= S4 = Influnx in wässriger Lösung

Z = S5 = Influnx in alkoholischer Lösung

(Konzentration jeweils bezogen auf 0.1 µg Echinacosid, bzw. 0.49 Vol% Äthanol)

p = Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit  
p1:  $p < 0.05$ ; p2:  $p < 0.01$ ; p3:  $p < 0.005$ )



### 3.2.2.2. Zugabe von normog. Serumpool (siehe Abb. 8):

Auch bei der Zugabe normog. Serumpools finden wir stets eine Steigerung der Phagozytoseraten bezüglich aller Testsubstanzen. Dabei stimulieren wieder die Influecxpräparate deutlich stärker als die Echinaceapräparate und die alkoholischen Lösungen deutlich stärker als die wässrigen, mit Ausnahme von Echinacea in wässriger Lösung bei den agammag. Tieren, das eine höhere Phagozytoserate als Echinacea in alkoholischer Lösung aufweist. Alkohol stimuliert bei Leghorn-, normog. und agammag. Tieren am geringsten, bei dysg. Tieren zeigt Echinacea in wässriger Lösung die geringste Phagozytoseratensteigerung. Influecx in alkoholischer Lösung stimuliert bei allen Tiergruppen mit Ausnahme der agammag. Gruppe signifikant, bei den normog. Hühnern findet sich zusätzlich durch Echinacea in alkoholischer Lösung eine signifikante Stimulation.

# Abbildung 8:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten - bei unterschiedlichen Testsubstanzen (S1-S5):

Die zugehörigen Zahlenwerte finden sich in Tabellen 7, 8, 9 und 10.

Serumzusatz: normogammaglobulinämischer Serumpool

Tiergruppen: Leghorn Hühner

Normog. Hühner

Dysg. Hühner

Agammag. Hühner

Testsubstanzen: \* = S1 = Alkohol

Y = S2 = Echinacea in wässriger Lösung

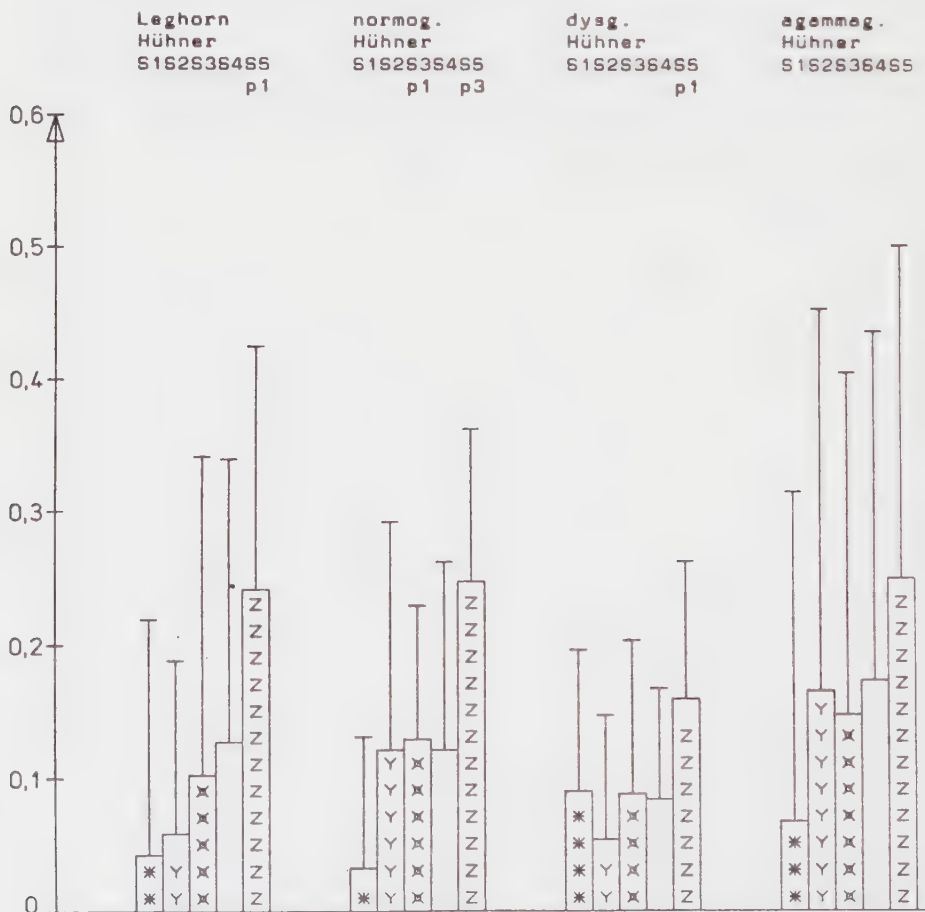
X = S3 = Echinacea in alkoholischer Lösung

= S4 = Influx in wässriger Lösung

Z = S5 = Influx in alkoholischer Lösung

(Konzentration jeweils bezogen auf 0.1 µg Echinacosid, bzw. 0.49 Vol% Äthanol)

p = Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit  
p1:  $p < 0.05$ ; p2:  $p < 0.01$ ; p3:  $p < 0.005$ )



### 3.2.2.3. Zugabe von dysg. Serumpool (siehe Abb. 9):

Bei Zugabe von dysg. Serumpool bewirken lediglich die Influexpäparate bei allen Tiergruppen eine Steigerung der Phagozytoserate. Echinacea in alkoholischer Lösung führt bei Leghorn-, normog. und agammag. Hühnern zu einer verminderten, bei dysg. Tieren jedoch zu einer Erhöhung der Phagozytoserate. Eine Stimulation der Phagozytose findet sich bei allen Tiergruppen, mit Ausnahme der normog., wo eine Verringerung zu verzeichnen ist, durch Echinacea in wässriger Lösung. Alkohol führt nur bei der dysg. Tiergruppe zu einer geringfügigen Steigerung der Phagozytose, die restlichen Tiergruppen zeigen eine Herabsetzung. Die Influexpäparate bewirken immer eine deutlich höhere Phagozytoserate als die Echinaceapräparate, und die wässrigen Ansätze stimulieren immer stärker als die alkoholischen, mit Ausnahme von Echinacea bei der dysg. Tiergruppe, wo der alkoholische Ansatz stärker stimuliert als der wässrige. Eine signifikante Steigerung der Phagozytoserate findet sich nur bei den dysg. Tieren durch Influe in wässriger Lösung.

# Abbildung 9:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten - bei unterschiedlichen Testsubstanzen (S1-S5):

Die zugehörigen Zahlenwerte finden sich in Tabellen 7, 8, 9 und 10.

Serumzusatz: dysgammaglobulinämischer Serumpool

Tiergruppen: Leghorn Hühner

Normog. Hühner

Dysg. Hühner

Agammag. Hühner

(Konzentrationseinstellung: 0.1 ug Echinacosid, bzw. 0.49 Vol% Äthanol pro ml Inkubationsansatz)

Testsubstanzen: \* = S1 = Alkohol

Y = S2 = Echinacea in wässriger Lösung

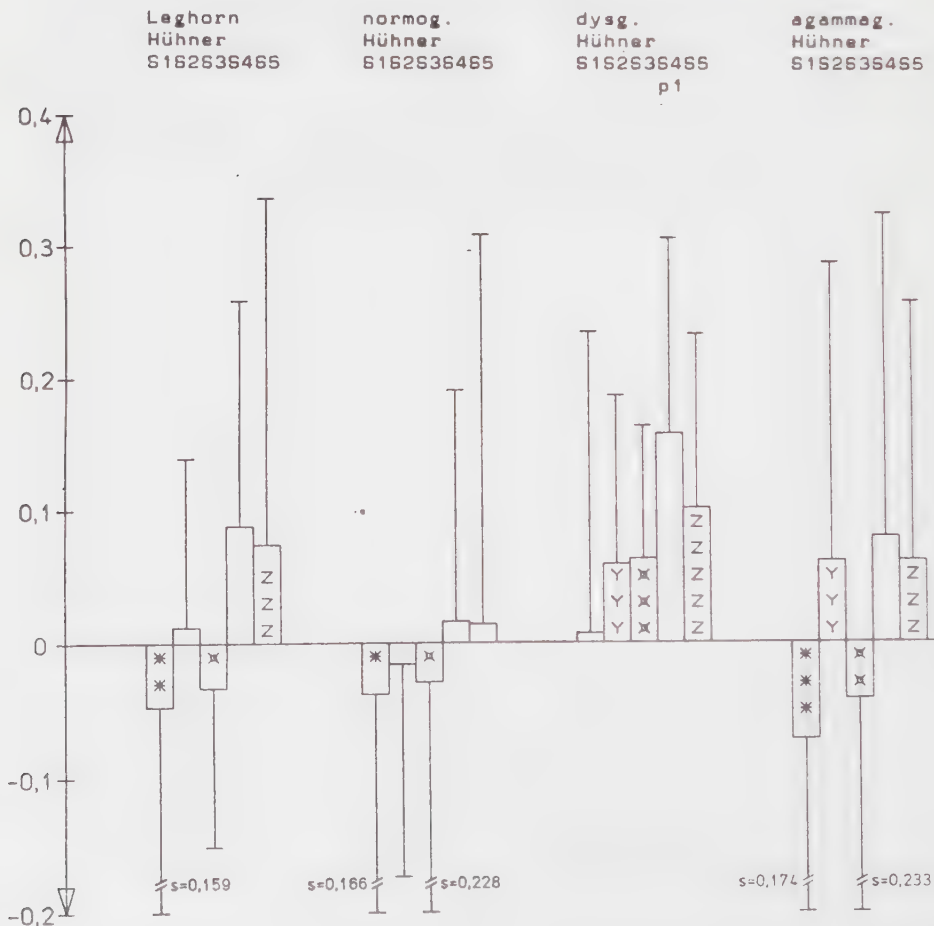
X = S3 = Echinacea in alkoholischer Lösung

= S4 = Influenza in wässriger Lösung

Z = S5 = Influenza in alkoholischer Lösung

(Konzentration jeweils bezogen auf 0.1 ug Echinacosid, bzw. 0.49 Vol% Äthanol)

p = Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit  
p1:  $p < 0.05$ ; p2:  $p < 0.01$ ; p3:  $p < 0.005$ )



#### 3.2.2.4. Zugabe von agammag. Serumpool (siehe Abb. 10):

Bei der Leghorn-Tiergruppe führen alle Testsubstanzen zu einer Erhöhung der Phagozytoserate, wobei Alkohol am wenigsten stimuliert und ansonsten die Influepräparate stärker als die jeweiligen Echinacea- und die alkoholischen Ansätze stärker als die entsprechenden wässrigen stimulieren. Die normog. Tiere zeigen bezüglich Alkohol und Echinacea in wässriger Lösung eine geringfügige Erhöhung der Phagozytoserate, Echinacea in alkoholischer Lösung und Influe in wässriger Lösung in geringerem Maße setzen die Rate herab, schließlich bewirkt Influe in alkoholischer Lösung eine deutliche Steigerung der Phagozytoserate. Bei den dysg. Hühnern zeigt sich nur für Alkohol eine Herabsetzung der Phagozytose, alle restlichen Testsubstanzen bewirken eine Stimulation, die für Echinacea in wässriger Lösung am deutlichsten und für die restlichen Substanzen nur geringfügig ausfällt. Nur die Influepräparate, und hier der alkoholische Ansatz deutlicher als der wässrige, bewirken eine Steigerung der Phagozytoserate bei den agammag. Tieren. Die restlichen Testsubstanzen rufen eine Herabsetzung der Phagozytose hervor, wobei die Verminderung bei Alkohol am deutlichsten und bei Echinacea in alkoholischer Lösung am schwächsten ausfällt.

# Abbildung 10:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten - bei unterschiedlichen Testsubstanzen (S1-S5):

Die zugehörigen Zahlenwerte finden sich in Tabellen 7, 8, 9 und 10.

Serumzusatz: agammaglobulinämischer Serumpool

Tiergruppen: Leghorn Hühner

Normog. Hühner

Dysg. Hühner

Agammag. Hühner

Testsubstanzen: \* = S1 = Alkohol

Y = S2 = Echinacea in wässriger Lösung

X = S3 = Echinacea in alkoholischer Lösung

= S4 = Influenza in wässriger Lösung

Z = S5 = Influenza in alkoholischer Lösung

(Konzentration jeweils bezogen auf 0.1 µg Echinacosid, bzw. 0.49 Vol% Äthanol)

p = Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit

p1:  $p < 0.05$ ; p2:  $p < 0.01$ ; p3:  $p < 0.005$

Leghorn  
Hühner

S1S2S3S4S5

normog.  
Hühner

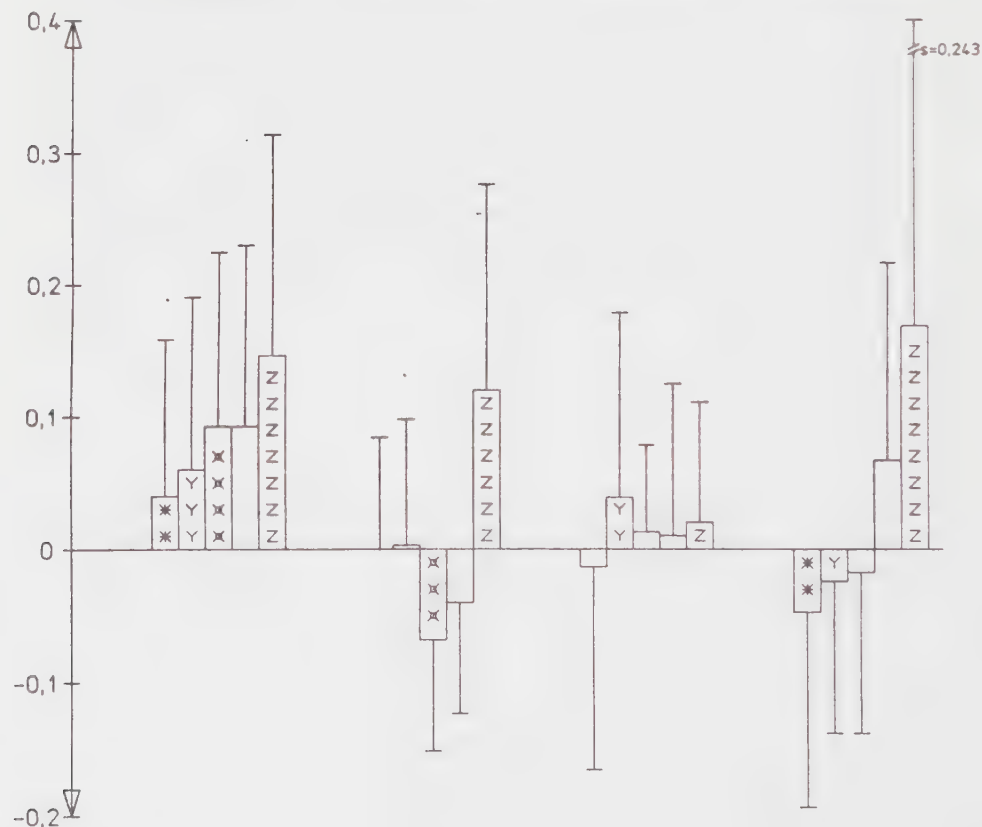
S1S2S3S4S5

dysg.  
Hühner

S1S2S3S4S5

agammag.  
Hühner

S1S2S3S4S5



#### 4. Diskussion

##### 4.1. Diskussion der Methode

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß echinaceehaltiger Präparate auf die Phagozytoserate mononukleärer Hühnerblutleukozyten untersucht. Zugleich wurde geprüft, ob die Provenienz des dem Inkubationsansatz zugesetzten Serums von Bedeutung ist. Da somit neben dem Einfluß der Testsubstanz auch Serumeinflüsse ermittelt werden sollten, ergab sich eine große Anzahl von Versuchsansätzen, die ein in vivo Arbeiten unmöglich machte. Von den zur Verfügung stehenden in vitro Phagozytostests wurde ein direkter Test ausgewählt, weil diese Testverfahren die Adhäsions- und Inkorporationsphase der Phagozytose berücksichtigen (Klebenoff and Clark, 1978). Indirekte Phagozytostests messen hingegen Stoffwechselvorgänge, die mit Abtötung und Abbau des bereits inkorporierten Partikels in Zusammenhang stehen. Somit kommt diesen Tests eine andere Aussagekraft zu, insofern, als der Vorgang, der zur Phagozytosemessung herangezogen wird, zwar auch, aber nicht nur von der Partikelaufnahme abhängt (Klebenoff and Clark, 1978). Direkte Phagozytostests können, wie einleitend erwähnt, meist nicht zwischen inkorporierten und nur angelagerten Partikeln unterscheiden. Weiterhin erfolgt die Messung der Phagozytoserate in der Regel nur zu einem Zeitpunkt, so daß der gesamte Verlauf des Phagozytoseprozesses keine Berücksichtigung findet (Klebenoff and Clark, 1978). Die Ergebnisse sind in hohem Ausmaß von der Art, der Anzahl und dem Verhältnis von Phagozyt und Phagozytosepartikel sowie von den Inkubationsbedingungen abhängig (Klebenoff and Clark, 1978).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde unter folgenden standardisierten Bedingungen gearbeitet:

-Testsubstanz: Alle eingesetzten Präparate stammten je aus derselben, portionsweise eingefrorenen Charge. Damit war sichergestellt, daß die Testsubstanzen bezüglich der Quantitäten der Inhaltsstoffe immer gleichartig waren. Dies ist deshalb von Bedeutung, weil Pflanzen-

extrakte oder Tiergifte starken Quantitätsschwankungen der Inhaltsstoffe unterliegen.

-Hefezellsuspension: Die Hefezellsuspension des gesamten Versuchs stammte aus derselben, portionsweise eingefrorenen Hefecharge. Damit war sichergestellt, daß Einflüsse von Hefequalität und -quantität nicht zur Auswirkung kamen. Grund und Rossi (1981) zeigen auf, daß die Candidaphagozytose von Hühnermakrophagen von der Candidaqualität abhängig ist, insofern, als inaktivierte Candidazellen stärker phagozytiert werden. Die Hefequantität, also die dem Phagozyten angebotene Partikelanzahl, beeinflußt ebenfalls die Phagozytose (Klebanoff and Clark, 1978). Die hier verwendete Zellzahl von  $30 \times 10^6$  Hefezellen pro ml Suspension wurde in Vorversuchen ermittelt. Sie ist so gewählt, daß die resultierende Phagozytoserate nicht so gering ist, daß Steigerungen unter Testsubstanzeinfluß nur minimal sind, daß aber durchaus noch deutliche Steigerungen möglich sind. Wagner (1983), der abgesehen von der Zellisolation und einer um 50 % geringeren Serumpoolkonzentration bei Humangranulozyten mit derselben Methode arbeitet, kommt bei einer Hefezellzahl von  $37 \times 10^6$  auf Grundphagozytoseraten von etwa 2 Hefezellen pro Granulozyt.

-Serumpool: Die Zugabe von Serumpool dient der Opsonierung. Wie einleitend erwähnt, beeinflussen jedoch neben Immunglobulinen und Komplement weitere Seruminhaltsstoffe die Phagozytose. Um von dieser Seite her immer unter standardisierten Bedingungen zu arbeiten, wurde von jeder Tiergruppe soviel Individualserum gewonnen, daß nach Poolen und portionsweisem Einfrieren der gesamte Versuch mit demselben Tiergruppenserumpool gespeist werden konnte. Damit war die Konstanz des Einflusses der Serumpools gewährleistet. Der Anteil des Serumpools im Inkubationsansatz von 5 % ist doppelt so hoch wie bei Wagner (1983). Er differiert nur unwesentlich von dem Serumanteil von 4.55 %, mit dem am

hiesigen Institut bei einer ähnlichen Inkubationsmethodik bereits indirekte Phagozytostests mit mononukleären Hühnerleukozyten durchgeführt wurden.

-mononukleäre Zellen: Infolge der geringen, für einen Reaktionsansatz benötigten Zellmenge von  $1 \times 10^6$  konnten alle Zellen, die von einem Einzeltier für eine Versuchsetappe benötigt wurden, aus einer einzigen Blutentnahme bezogen werden. Dadurch wurden alle endogenen (Seruminhaltsstoffe) oder exogenen (Tagesrhythmik, Fütterung) Faktoren, die die Phagozytose im lebenden Huhn beeinflussen können, innerhalb einer Versuchsetappe ausgeschlossen.

Beim hier angewandten Brandtschen Phagozytostest wird mikroskopisch ausgewertet. Dabei fanden lediglich bestimmte Kriterien erfüllende Kernschatten Berücksichtigung. Kernschatten, also Zellstrukturen, bei denen sowohl Zytolyse als auch Karyolyse eingetreten ist, besitzen aber nicht die Fähigkeit zur Phagozytose. Das tatsächliche Stattfinden einer Phagozytose - zumindest einer Adhäsion - konnte aber vor der Trocknung der Präparate bei den dann noch intakten Leukozyten mikroskopisch kontrolliert werden. Weiterhin konnte bei dem hier verwendeten Phagozytostest eine Temperaturabhängigkeit der Hefezellphagozytose (Warr, 1980) deutlich festgestellt werden, was unmöglich wäre, wenn man nur zufällige Über-einanderlagerungen von Hefezellen und Kernschatten unterstellt.

Da das Auswerten von Zellüberresten zur Phagozytosebestimmung trotzdem einen methodischen Nachteil darstellt, wird der hier beschriebene Phagozytostest als geeigneter Screeningtest angesehen.

## 4.2. Diskussion der Ergebnisse

### 4.2.1. NaCl-Kontrollwerte

#### 4.2.1.1. Tiergruppeneinfluß:

Die NaCl-Kontrollwerte der einzelnen Tiergruppen, also die Phagozytoseraten ohne Testsubstanzzusatz, verhalten sich bei Zugabe aller Serumpools einheitlich (siehe Abb. 1 und Abb. 6). Die Werte von Leghorn-, normog. und dysg. Tieren unterscheiden sich nur geringfügig, während die Rate der agammag. Tiere deutlich erhöht ist. Die Blutmonozyten der agammag. Tiere zeigen also eine höhere Phagozytosefähigkeit als die der anderen Tiergruppen. Arbeiten von Glick et al (1964) und Klumpp (1986), die ebenfalls die Phagozytoseraten von bursektomierten Hühnern mit der von Kontrollhühnern vergleichen, können dieses Ergebnis nicht bestätigen. Man muß sich aber der unterschiedlichen Methodik bewußt sein. Beide benutzen den Carbon-Clearance-Test, d.h. sie untersuchen in vivo die Kohlepartikelphagozytosefähigkeit von hepato-splenalen Makrophagen. Glick et al. (1964) bestimmen zusätzlich in vitro die Staphylococcus aureus-Phagozytose von heterophilen Granulozyten sowie von Thrombozyten. Es bestehen also Unterschiede zum einen in Hinsicht auf den untersuchten Zelltyp und zum anderen auf die angebotenen Phagozytosepartikel. Da die bursektomierten Tiere keine B-Lymphozyten und damit keine nachweisbaren Immunglobulinspiegel bzw. Dysgammaglobulinämien aufweisen, ihnen also die humorale Komponente des Immunsystems fehlt, ist es naheliegend, daß dies durch erhöhte Aktivität des Resistenzfaktors Phagozytose ausgeglichen wird.

#### 4.2.1.2. Serumpoleinfluß:

Bei Zusatz unterschiedlicher Serumpools verhalten sich die NaCl-Kontrollwerte aller Tiergruppen einheitlich (siehe Abb. 1 und Abb. 6). Immer unterscheiden sich die Raten bei Leghorn- und normog. Serumpoolzusatz nur geringfügig, wobei aber meist die Werte bei normog. Serumpoolzusatz etwas niedriger liegen als bei Zusatz von Leghorn-Serumpool. Die Phagozytoseraten bei dysg. bzw. agammag. Serumpoolzusatz

unterscheiden sich ebenfalls nur geringfügig. In jedem Fall jedoch finden wir bei Zugabe dieser letztgenannten Serumpools eine deutlich niedrigere Phagozytoserate als bei Zugabe von Leghorn- bzw. normog. Serumpool. Dieses Resultat findet Bestätigung durch unveröffentlichte, am hiesigen Institut ausgeführte Arbeiten, bei denen ebenfalls eine Beeinflussung der Hefezellphagozytose von Hühnermakrophagen durch unterschiedliche Hühnerindividualseren festgestellt wurde, insofern, als Individualseren von Leghorn-Hühnern stärker stimulierten als solche von normog. Hühnern, und diese wiederum stärker als Individualseren von dysg. Tieren. Es ist naheliegend, den Serumpoolen einfluß auf phagozytosebeeinflussende Seruminhaltsstoffe zurückzuführen:

-Immunglobuline: Als Opsonine fungierende Immunglobuline, also besonders die IgG-Fraktion, können sich zwar an die Fc-Rezeptoren des Phagozyten anlagern, eine spezifische Anlagerung an Hefepartikel setzt aber das Vorhandensein spezifischer Hefeantikörper, also vorherige Immunisierung, voraus (Warr, 1980). Da *Saccharomyces cerevisiae* ein ubiquitärer Keim ist, ist eine natürliche Immunisierung zwar nicht völlig auszuschließen, sie ist aber doch sehr unwahrscheinlich. Die IgG- und IgM-Fraktion der Immunglobuline (Van Oss and Stinson, 1970) können sich aber auch durch unspezifische Bindungen vom van-der-Waals-Typ (Van Oss and Singer, 1966) an inerte Partikel und Mikroorganismen anlagern. Über diesen Mechanismus kann die Phagozytose von Polystyren durch Plasmazugabe erhöht werden (Mickenberg et al., 1970). Eine Beeinflussung der Hefezellphagozytose durch IgG würde in Einklang zu den gewonnenen Ergebnissen stehen, da ja dysg. Tiere infolge eines genetischen Immundefektes und agammag. Tiere infolge von Bursaektomie kaum nachweisbare IgG-Spiegel besitzen.

-Komplement: Eine Opsonierung des Phagozytosepartikels durch Komplement kann nur nach vorheriger Aktivierung des Komplementsystems stattfinden. Der klassische Weg der

Komplementaktivierung setzt das Vorhandensein spezifischer Antikörper, also vorherige Immunisierung voraus (Warr, 1980), was im Falle der Hefe unwahrscheinlich ist. Im nichtimmunisierten Organismus kann der Phagozytosepartikel immunglobulinunabhängig über den alternativen Weg eine Aktivierung des Komplementsystems erreichen (Warr, 1980). Pillemer et al. (1954) berichten über eine Komplementsystemaktivierung über den alternativen Weg durch Zymosan, eine unlösliche Hefezellwandpreparation. Folglich ist eine Komplementaktivierung und damit eine Komplementopsonierung auch durch hitzeinaktivierte Hefezellen zu erwarten.

-Sonstige Seruminhaltstoffe: Wie einleitend erwähnt, ist eine von Immunglobulinen und Komplement unabhängige Beeinflussung der Phagozytose durch weitere Seruminhaltstoffe nicht auszuschließen.

Zusammenfassend ist also eine Opsonierung von Hefezellen durch spezifische IgG-Immunglobuline eher unwahrscheinlich. Unspezifische Anlagerungen von IgG und IgM sowie von Komplement an Hefezellen sowie weitere Seruminhaltstoffe können die Phagozytose aber durchaus beeinflußt haben.

Es muß betont werden, daß im Rahmen dieser Arbeit immer nur mit einem Tiergruppenserumpool gearbeitet wurde. Folglich kann die Frage nicht beantwortet werden, ob die in dieser Arbeit gefundenen Unterschiede der Tiergruppen-NaCl-Kontrollwerte bei Zusatz unterschiedlicher Tiergruppenserum auf die Tiergruppenzugehörigkeit des verwendeten Serums zurückzuführen ist oder bei der Vielzahl an phagozytosebeeinflussenden Seruminhaltstoffen einer zufälligen besonderen Serumzusammensetzung zu verdanken ist.

#### 4.2.2.Konzentrationsvorversuch

##### 4.2.2.1.Tiergruppeneinfluß:

Wie aus den Abbildungen 2, 3, 4 und 5 hervorgeht, spielte die Tiergruppenzugehörigkeit für die im Konzentrationsvorversuch erhaltenen Ergebnisse keine Rolle. Die Tendenz der Ergebnisse innerhalb der einzelnen Tiergruppen war beim je-

weiligen Serumpoolzusatz gleich.

#### 4.2.2.2. Serumpooleinfluß:

Die Ergebnistendenz im Konzentrationsvorversuch wurde durch den jeweiligen Serumpoolzusatz bestimmt.

Bei Zugabe von Leghorn- und normog. Serumpool (siehe Abbildungen 2 und 3) konnte bei allen Tiergruppen fast ausnahmslos ein kontinuierliches Ansteigen der Phagozytoserate mit steigender Konzentration von InflueX in Wasser verzeichnet werden. Wagner, der unterschiedliche Konzentrationen von Präparaten, die Pflanzenextrakte und Tiergifte enthalten, auf ihre in vitro Phagozytosewirkung auf Humangranulozyten untersucht, findet ebenfalls lineare Abhängigkeiten der Phagozytoserate von der Testsubstanzkonzentration. So bewirkt ein unter anderem *Aconitum napellus* und *Lachesis muta* enthaltendes Präparat bei den Konzentrationsstufen 1:100, 1:10 und 1:1 eine Stimulationszunahme der Hefezellphagozytose mit steigender Konzentrationsstufe (Wagner, 1985).

Bei Zugabe dysg. Serumpools (siehe Abb. 4) fand sich nach minimalen Alterationen in der niedrigsten Konzentrationsstufe und leichtem Absinken der Phagozytoserate in der zweiten Stufe (excl. agammag. Tiere) eine Stimulation der Rate in der dritten Konzentrationsstufe. In der höchsten Konzentrationsstufe stellen sich dann jedoch deutlich niedrigere Werte als die NaCl-Kontrollwerte ein. In einer auf 0.1 µg Echinacosid eingestellten Konzentration ergab sich also die stärkste Stimulation durch InflueX in wässriger Lösung, während eine auf 1 µg bezogene Konzentrationsstufe eine deutliche Suppression bewirkte. Auch diese Art der Abhängigkeit von Testsubstanzkonzentration und Phagozytoserate steht in Einklang zu Ergebnissen von Wagner. Wagner et al. (1986) finden im Chemolumineszenztest mit einem unter anderem *Echinacea angustifolia*, *Lachesis muta* und *Aconitum napellus* enthaltenden Präparat im unverdünnten Zustand eine Suppression der Phagozytose, die dann bei einer Verdünnung von 1:100000 in einen stimulierenden Effekt umschlägt.

Zusammenfassend lag bei den Inkubationsansätzen mit dysg. Serumpoolzusatz das Stimulationsoptimum bei einer auf 0.1 µg

Echinacosid bezogenen Konzentration, und diese Konzentrationsstufe bewirkte auch bei Zugabe von Leghorn- und normog. Serumpool eine deutliche, wenn auch nicht die stärkste Stimulation der Phagozytose. Somit wurde diese Konzentrationseinstellung für den Substanzendversuch ausgewählt.

#### 4.2.3. Substanzendversuch

##### 4.2.3.1. Tiergruppeneinfluß:

Im Konzentrationsendversuch war bei Zugabe von Leghorn-, normog. und dysg. Serumpool keine Abhängigkeit der Ergebnisse von der Tiergruppenzugehörigkeit zu verzeichnen (siehe Abbildungen 7, 8 und 9). Die unterschiedlichen Ergebnistendenzen innerhalb der einzelnen Tiergruppen bei Zugabe agammag. Serumpools sind in keinem Fall signifikant (siehe Abb. 10).

##### 4.2.3.2. Serumpoleinfluß:

Auch im Substanzendversuch war die Ergebnistendenz vom jeweiligen Serumpoolzusatz abhängig.

4.2.3.2.1. Alkohol: Alkohol führt bei Leghorn- und normog. Serumpoolzusatz bei allen Tiergruppen zu einer minimalen Stimulation (siehe Abbildungen 7 und 8), bei Zugabe von dysg. Serumpool zu einer leichten Suppression der Phagozytose (siehe Abb. 9). Diese Ergebnisse finden Bestätigung in den Stimulationsraten der echinaceahaltigen Präparate, insofern, als bei Leghorn- und normog. Serumpoolzusatz die alkoholischen Lösungen der jeweiligen Präparate eine stärkere Stimulation bewirken als die wässrigen Lösungen. Entsprechend stimulieren bei dysg. Serumpoolzusatz die wässrigen Lösungen der echinaceahaltigen Präparate stärker als die alkoholischen. Bei Zugabe agammag. Serumpools ist die Art der Alkoholwirkung tiergruppenunterschiedlich und die jeweilige Alkoholwirkung findet nicht immer Bestätigung in den Veränderungen der Phagozytoseraten durch Zugabe der echinaceahaltigen Präparate (siehe Abb. 10).

Zusammenfassend hatte eine Alkoholkonzentration von 0.49 Vol% im Inkubationsansatz eine geringfügige, in der Tendenz vom Serumpoolzusatz abhängige Wirkung auf die Phagozytose. Die

von den einleitend erwähnten Autoren berichtete Suppression der Phagozytose durch Äthanol (Guarneri und Laurenzi, 1968; Rimland und Hand, 1980; Schopf et al., 1985) kann in unseren Versuchen nicht bestätigt werden. Die Ergebnisse stehen jedoch in Einklang zu Arbeiten von Klumpp (1986), der 24 Stunden nach oraler Verabreichung von Alkohol an Leghorn, dysg. und agammag. Hühner eine geringfügige Steigerung der Phagozytose im carbon-clearance-Test nachweist.

#### 4.2.3.2.2. Echinaceahaltige Substanzen:

Bei Zugabe von Leghorn- und normog. Serumpool (siehe Abbildungen 7 und 8) führten alle echinaceahaltigen Präparate zu einer Stimulation der Phagozytose, wobei die jeweiligen Influxlösungen immer stärker stimulierten als die auf das jeweilige Lösungsmittel bezogenen Echinacealösungen.

Bei dysg. und agammag. Serumpoolzusatz (siehe Abbildungen 9 und 10) bewirkte die Zugabe von Influx in alkoholischer Lösung immer und Influx in wässriger Lösung mit einer Ausnahme (normog. Tiere bei normog. Serumpoolzusatz) eine Stimulation der Phagozytose. Für die Echinacealösungen ergibt sich ein geringfügiger, in der Tendenz von Serumpoolzugabe, Tiergruppenzugehörigkeit und Lösungsmittel abhängiger Einfluß auf die Phagozytose. Die deutlichere Stimulation der Phagozytose durch die jeweiligen Influxlösungen im Vergleich zu den auf die Lösungsmittel bezogenen Echinacealösungen bestätigt sich also bei dysg. und agammag. Serumpoolzusatz.

Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnisse, daß das echinaceahaltige Mischpräparat Influx und ein Echinacea-monopräparat deutliche Steigerungen der Phagozytose mononukleärer Hühnerzellen bewirken können, stehen in Einklang zu den einleitend erwähnten Autoren (Beuscher et al., 1977; Beuscher et al., 1978; Beuscher, 1982; Möse, 1983 und Wagner, 1983), die bei anderen Species und teilweise anderen Zelltypen ebenfalls eine phagozytosesteigernde Wirkung durch echinaceahaltige Substanzen belegen. Ergebnisse von Klumpp (1986), der 24 Stunden nach oraler Verabreichung von Influx<sup>®</sup> an Hühner mit dem carbon-clearance-Test zwar eine Stimulation

der Phagozytose bei Leghorn-Hühnern, jedoch eine leichte Suppression bei dysg. Tieren festgestellt, sind mit den hier ermittelten Ergebnissen nur bedingt zu vergleichen, insofern, als bei oraler Verabreichung bestimmte Influxinhaltsstoffe eventuell nicht oder nur teilweise resorbiert werden. Darüber hinaus zeigen die vorliegenden Ergebnisse jedoch die Regelmäßigkeit, daß das echinaceahaltige Mischpräparat Influx eine stärkere Stimulation der Phagozytose bewirkt als das Echinaceamonopräparat. Das Mischpräparat Influx muß also neben der phagozytosesteigernden Echinaceakomponente weitere Inhaltsstoffe besitzen, die ebenfalls eine Phagozytosesteigerung bewirken oder die Wirkung von Echinacea verstärken. Über derartige Verstärkungen der Phagozytosewirkungen einer Substanz durch Zusatz einer zweiten berichtet auch Wagner (1985). Die vorliegenden Ergebnisse können die Frage, welche Inhaltsstoffe von Echinacea die Stimulation der Phagozytose bewirken und welche weiteren Komponenten von Influx diese Wirkung verstärken, nicht beantworten. Ansätze dazu finden sich bei Wagner (1983), der die phagozytosesteigernde Wirkung von Echinaceaextrakten auf zwei Polysaccharidfraktionen zurückführen kann. Auch über den Wirkungsmechanismus der Phagozytosesteigerung durch Echinacea bzw. Influx können nur Spekulationen angestellt werden. Denkbar ist ein Eingreifen in das Opsonierungsgeschehen durch Einflußnahme auf spezifische Zellrezeptoren oder durch Veränderungen der Hydrophobizität, der Ladung oder der chemischen Zusammensetzung der Zellmembran. Auch eine Beeinflussung anderer phagozytoserelevanter Parameter wie Energieproduktion, Struktur der Mikrofilamente bzw. Mikrotubuli oder Konzentration an zyklischen Nukleotiden kann nicht ausgeschlossen werden.

## 5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde in vitro der Einfluß echinaceahaltiger Präparate auf die Hefezellphagozytose von Blutmonozyten unterschiedlicher Hühnergruppen untersucht. Als Tiergruppen wurden Leghorn-, normo-, dys- und agammaglobulinämische Hühner verwendet. Die Phagozytoseraten der Testsubstanzen wurden auf NaCl-Kontrollwerte bezogen, bei denen dem Inkubationsansatz anstatt Testsubstanz physiologische NaCl-Lösung zugegeben wurde. Alle Inkubationsansätze wurden jeweils mit einem Serumpool von jeder Tiergruppe hergestellt.

Die NaCl-Kontrollwerte der agammaglobulinämischen Tiere waren bei Zusatz aller Serumpools immer deutlich erhöht im Vergleich zu denen von Leghorn-, normo- oder dysgammaglobulinämischen Tieren. Weiterhin ergab sich, daß die Höhe der Kontrollwerte davon abhing, welcher Serumpool zugegeben wurde. Bei Zugabe von dys- und agammagammaglobulinämischem Serumpool waren die Werte immer niedriger als bei Zugabe von Leghorn- und normogammaglobulinämischem Serumpool.

Die Höhe der Phagozytoseraten bei Testsubstanzzugabe war in geringem Maße von der Tiergruppenzugehörigkeit, jedoch in starkem Maße vom verwendeten Serumpool abhängig.

Bei Zugabe von Leghorn- und normogammaglobulinämischem Serumpool ergab sich für alle Testsubstanzen bei allen Tiergruppen eine Steigerung der Phagozytoserate. Dabei stimulierten die Influexpräparate deutlich stärker als die entsprechenden Echinaceapräparate und der jeweils alkoholische Ansatz stärker als der wässrige; Alkohol alleine stimulierte vergleichsweise gering. Folglich ergaben sich für Influex in alkoholischer Lösung die stärksten, häufig signifikanten Steigerungen der Phagozytoserate.

Bei den Ansätzen, die Serum dysgammaglobulinämischer Hühner enthielten, lagen die Phagozytoseraten bei Zugabe von Influexpräparaten höher als bei Zugabe der entsprechenden

Echinaceapräparate, wobei der jeweils wässrige Ansatz jedoch einen höheren Wert einnahm als der alkoholische. Alkohol alleine führte außer bei den dysgammaglobulinämischen Hühnern, wo eine minimale Steigerung zu verzeichnen war, zu einer Hemmung der Phagozytose. Die Influenzpräparate führten bei allen Tiergruppen zu einer Stimulation der Phagozytose, die in einem Fall signifikant war.

Bei Zugabe von agammaglobulinämischem Serum fanden wir keine für alle Tiergruppen geltenden Regelmäßigkeiten mit der Ausnahme, daß Influenza in alkoholischer Lösung immer zu einer Steigerung der Phagozytoserate führte.

## 6. Summary

The influence of preparations containing echinacea on in vitro phagocytosis by mononuclear chicken cells

The present work investigates the influence of preparations containing echinacea on the in vitro phagocytosis of yeast cells by monocytes from the blood of various groups of chickens. The various groups used were leghorns, normogammaglobulinemic, dysgammaglobulinemic and agammaglobulinemic chickens. The rate of phagocytosis influenced by the test substance was compared to controls receiving NaCl, by giving physiological NaCl solution instead of test substance to the incubation medium. The incubation medium for each group was made with serum pooled from that group.

The agammaglobulinemic animals always showed significantly increased NaCl controls by the addition of pooled serum, in contrast to the leghorns or normogammaglobulinemic or dysgammaglobulinemic animals. Furthermore the control values were determined by the individual serum pool. The addition of pooled serum from dysgammaglobulinemic or agammaglobulinemic animals always produced lower values than the addition of

leghorn or normogammaglobulinemic pooled serum.

The rate of phagocytosis following the addition of the test substance showed some variation depending on the group, but a much greater influence from the serum pool.

The addition of normogammaglobulinemic or leghorn pooled serum increased the rate of phagocytosis by all animal groups and for all test substances. The Influtex preparations stimulated significantly more than the corresponding echinacea preparations, with those containing alcohol more than those containing water; alcohol alone stimulated comparatively little. Thus Influtex in alcoholic solution gave the strongest, often significant increase in the rate of phagocytosis.

In charges which contained serum from dysgammaglobulinemic chickens, the rate of phagocytosis was higher with the Influtex preparations than with the corresponding echinacea preparations, with that of the water soluble preparations higher than with the alcoholic solution. Alcohol alone stopped phagocytosis, except in the dysgammaglobulinemic chickens, where it produced a very small increase. The Influtex preparation stimulated phagocytosis in all groups, which in one case was statistically significant.

The addition of agammaglobulinemic serum to all groups led to no trends, with the exception that Influtex in alcoholic solution always produced an increase in the rate of phagocytosis.

## 7. Tabellarischer Anhang

Tabelle 1:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - absolute NaCl-Kontrollwerte (Konzentrationsvorversuch):

Serumpoolzusätze (Ser): LEG=Leghorn

NOR=normogammaglobulinämisch

DYS=dysgammaglobulinämisch

AGA=agammaglobulinämisch

(x=Mittelwert, s=Standartabweichung)

### Leghorn-Tiere:

| Ser | Tiernummern (I-IX) |      |      |      |      |      |      |      |      | x     | s    |
|-----|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|
|     | I                  | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | IX   |       |      |
| LEG | 1.29               | 0.90 | 0.91 | 1.01 | 1.10 | 0.98 | 1.13 | 1.15 | 1.01 | 1.053 | .126 |
| NOR | 1.31               | 0.94 | 0.87 | 1.01 | 1.04 | 0.97 | 1.14 | 1.13 | 1.03 | 1.049 | .130 |
| DYS | 0.76               | 0.69 | 0.77 | 0.75 | 0.83 | 0.44 | 0.67 | 0.73 | 0.71 | 0.706 | .110 |

### normogammaglobulinämische Tiere:

| Ser | Tiernummern (I-X) |      |      |      |      |      |      |      |      |      | x          | s |
|-----|-------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------------|---|
|     | I                 | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | IX   | X    |            |   |
| LEG | 1.11              | 1.19 | 1.15 | 1.04 | 1.26 | 0.97 | 0.92 | 0.95 | 0.87 | 0.94 | 1.040 .131 |   |
| NOR | 1.16              | 1.19 | 1.03 | 1.05 | 1.14 | 1.05 | 0.90 | 0.92 | 0.92 | 0.89 | 1.025 .113 |   |
| DYS | 0.59              | 0.96 | 0.96 | 0.73 | 0.97 | 0.79 | 0.79 | 0.79 | 0.54 | 0.65 | 0.777 .154 |   |

### dysgammaglobulinämische Tiere:

| Ser | Tiernummern (I-IX) |      |      |      |      |      |      |      |      | x     | s    |
|-----|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|
|     | I                  | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | IX   |       |      |
| LEG | 1.05               | 1.25 | 1.19 | 0.93 | 0.86 | 1.18 | 1.44 | 1.24 | 1.10 | 1.138 | .176 |
| NOR | 0.95               | 1.26 | 1.14 | 0.85 | 0.91 | 1.29 | 1.36 | 1.24 | 1.04 | 1.116 | .185 |
| DYS | 0.80               | 1.01 | 0.81 | 0.49 | 0.59 | 0.95 | 0.80 | 0.81 | 0.84 | 0.789 | .161 |

### agammaglobulinämische Tiere:

| Ser | Tiernummern (I-IX) |      |      |      |      |      |      |      |      | x     | s    |
|-----|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|
|     | I                  | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | IX   |       |      |
| LEG | 1.22               | 1.13 | 1.15 | 1.35 | 1.41 | 1.32 | 1.25 | 1.50 | 1.12 | 1.272 | .133 |
| NOR | 1.16               | 1.05 | 1.16 | 1.38 | 1.52 | 1.33 | 1.30 | 1.39 | 1.11 | 1.267 | .155 |
| DYS | 0.87               | 0.81 | 0.88 | 1.24 | 1.15 | 0.94 | 0.86 | 1.34 | 1.10 | 1.021 | .191 |
| AGA | 0.79               | 0.64 | 0.75 | 1.03 | 0.99 | 0.97 | 0.72 | 1.20 | 0.90 | 0.888 | .178 |

Tabelle 2:

Phagozytoseraten der Leghorn-Hühner (Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten) bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (Konzentrationsvorversuch):

Testsubstanzen(Sub): unterschiedliche Konzentrationen von Influenza in Wasser mit K1=0.001

K2=0.01

K3=0.1

K4=1 µg Echinacosid pro ml Inkubationsansatz

(x=Mittelwert, s=Standardabweichung, p=Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit -: p>0.05

p1: p<0.05

p2: p<0.01

p3: p<0.005)

| Sub                                       | Tiernummern (I-IX) |       |       |       |       |       |       |       |       | x      | s    | p  |
|-------------------------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------|----|
|                                           | I                  | II    | III   | IV    | V     | VI    | VII   | VIII  | IX    |        |      |    |
| Serumpoolzusatz: Leghorn                  |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                        | + .16              | + .05 | + .01 | + .15 | + .05 | + .06 | + .08 | + .03 | - .09 | + .056 | .075 | -  |
| K2                                        | + .15              | +/-0  | +/-0  | +/-0  | + .21 | + .09 | + .09 | + .14 | + .18 | + .096 | .081 | -  |
| K3                                        | + .17              | + .08 | + .03 | + .08 | + .24 | + .08 | + .11 | + .21 | + .17 | + .130 | .070 | -  |
| K4                                        | + .20              | +/-0  | + .24 | + .11 | + .38 | + .27 | + .15 | + .02 | + .03 | + .156 | .129 | -  |
| Serumpoolzusatz: normogammaglobulinämisch |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                        | + .17              | - .09 | + .01 | + .07 | + .11 | + .02 | - .06 | + .01 | - .03 | + .023 | .082 | -  |
| K2                                        | + .09              | - .09 | + .06 | + .08 | + .22 | + .10 | + .09 | + .06 | + .11 | + .080 | .080 | -  |
| K3                                        | + .14              | - .09 | + .09 | + .18 | + .28 | + .14 | + .11 | + .17 | + .16 | + .131 | .099 | -  |
| K4                                        | + .10              | + .02 | + .24 | + .22 | + .25 | + .18 | + .17 | + .02 | +/-0  | + .133 | .100 | -  |
| Serumpoolzusatz: dysgammaglobulinämisch   |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                        | + .05              | - .12 | - .17 | + .03 | - .02 | + .12 | +/-0  | + .03 | + .16 | + .009 | .104 | -  |
| K2                                        | + .08              | - .17 | - .21 | - .08 | - .07 | + .17 | + .01 | - .03 | + .03 | - .030 | .120 | -  |
| K3                                        | + .05              | - .19 | - .15 | + .03 | - .02 | + .37 | + .13 | + .09 | + .04 | + .039 | .163 | -  |
| K4                                        | - .15              | - .16 | - .09 | - .11 | - .39 | + .02 | - .06 | - .05 | - .21 | - .133 | .118 | p1 |

Tabelle 3:

Phagozytoseraten der normogammaglobulinämischen Hühner (Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten) bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (Konzentrationsvorversuch):

Testsubstanzen(Sub): unterschiedliche Konzentrationen von Influx in Wasser mit K1=0.001

K2=0.01

K3=0.1

K4=1 µg Echinacosid pro ml Inkubationsansatz

(x=Mittelwert, s=Standardabweichung, p=Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit -: p>0.05

p1: p<0.05

p2: p<0.01

p3: p<0.005)

| Sub                                       | Tiernummern (I-X) |       |       |       |       |       |       |       |       |       | x      | s    | p  |
|-------------------------------------------|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------|----|
|                                           | I                 | II    | III   | IV    | V     | VI    | VII   | VIII  | IX    | X     |        |      |    |
| Serumpoolzusatz: Leghorn                  |                   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                        | + .15             | - .04 | + .13 | + .02 | - .22 | + .16 | + .02 | + .05 | - .06 | + .02 | + .023 | .114 | -  |
| K2                                        | + .19             | - .04 | - .05 | + .06 | - .23 | + .16 | + .04 | + .13 | + .08 | + .06 | + .040 | .122 | -  |
| K3                                        | + .30             | + .08 | + .14 | + .15 | - .09 | + .15 | + .09 | + .10 | + .14 | + .01 | + .107 | .101 | -  |
| K4                                        | + .03             | + .42 | + .31 | + .12 | + .19 | + .27 | + .38 | + .29 | + .37 | + .14 | + .252 | .128 | p3 |
| Serumpoolzusatz: normogammaglobulinämisch |                   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                        | + .04             | - .14 | + .02 | + .01 | - .07 | - .04 | + .01 | + .02 | - .02 | + .03 | - .014 | .056 | -  |
| K2                                        | + .07             | - .01 | + .14 | - .08 | - .14 | + .05 | - .04 | + .09 | + .05 | + .07 | + .020 | .086 | -  |
| K3                                        | + .22             | + .16 | + .16 | + .09 | - .02 | + .24 | + .20 | + .14 | - .02 | + .05 | + .122 | .094 | -  |
| K4                                        | + .14             | + .20 | + .06 | - .09 | + .28 | + .07 | + .21 | + .11 | + .14 | + .13 | + .125 | .101 | -  |
| Serumpoolzusatz: dysgammaglobulinämisch   |                   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                        | + .16             | + .02 | + .02 | - .02 | - .03 | - .12 | - .13 | - .02 | + .06 | + .07 | + .001 | .087 | -  |
| K2                                        | + .05             | + .05 | + .08 | - .07 | + .04 | - .04 | - .13 | + .05 | + .05 | - .14 | - .006 | .082 | -  |
| K3                                        | + .05             | + .10 | + .14 | + .05 | + .10 | + .01 | - .28 | + .04 | + .08 | - .11 | + .018 | .125 | -  |
| K4                                        | - .13             | - .18 | - .20 | - .20 | - .11 | - .28 | - .37 | + .02 | + .10 | - .18 | - .153 | .136 | p1 |

Tabelle 4:

Phagozytoseraten der dysgammaglobulinämischen Hühner (Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten) bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (Konzentrationsvorversuch):

Testsubstanzen(Sub): unterschiedliche Konzentrationen von Influenza in Wasser mit K1=0.001

K2=0.01

K3=0.1

K4=1 µg Echinacosid pro ml Inkubationsansatz

(x=Mittelwert, s=Standardabweichung, p=Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit -: p>0.05

p1: p<0.05

p2: p<0.01

p3: p<0.005)

| Sub                                        | Tiernummern (I-IX) |       |       |       |       |       |       |       |       | x      | s    | p  |
|--------------------------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------|----|
|                                            | I                  | II    | III   | IV    | V     | VI    | VII   | VIII  | IX    |        |      |    |
| Serumpoolzusatz: Leghorn                   |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                         | + .03              | - .16 | - .14 | + .08 | + .18 | - .14 | + .16 | + .07 | - .04 | + .004 | .131 | -  |
| K2                                         | + .10              | - .25 | - .10 | + .09 | + .09 | - .23 | + .13 | - .07 | + .11 | - .014 | .151 | -  |
| K3                                         | + .03              | - .24 | - .15 | + .08 | + .16 | - .06 | + .15 | - .08 | + .25 | + .016 | .160 | -  |
| K4                                         | + .13              | - .08 | - .19 | + .37 | + .46 | + .11 | + .38 | + .14 | + .23 | + .172 | .215 | -  |
| Serumpoolzusatz: normogammaglobulinämisch: |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                         | + .07              | - .34 | - .07 | + .09 | + .07 | - .28 | + .19 | - .08 | + .09 | - .029 | .180 | -  |
| K2                                         | + .01              | - .17 | - .10 | + .13 | +/-0  | - .41 | + .22 | - .21 | + .09 | - .049 | .195 | -  |
| K3                                         | + .12              | - .52 | - .18 | + .09 | + .12 | - .17 | + .16 | - .19 | + .24 | - .037 | .244 | -  |
| K4                                         | + .29              | - .43 | - .15 | + .14 | + .11 | + .06 | + .33 | - .02 | + .19 | + .058 | .235 | -  |
| Serumpoolzusatz: dysgammaglobulinämisch    |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                         | - .08              | - .21 | - .26 | - .05 | + .13 | - .16 | + .13 | - .12 | - .04 | - .073 | .136 | -  |
| K2                                         | + .01              | - .36 | - .28 | - .04 | + .02 | - .32 | + .07 | - .10 | + .09 | - .101 | .174 | -  |
| K3                                         | + .08              | - .23 | - .19 | + .01 | + .13 | - .18 | + .08 | - .09 | + .02 | - .041 | .134 | -  |
| K4                                         | - .26              | - .46 | - .22 | - .15 | - .18 | - .43 | + .04 | - .21 | - .43 | - .256 | .162 | p3 |

Tabelle 5:

Phagozytoseraten der agammaglobulinämischen Hühner (Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten) bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (Konzentrationsvorversuch):

Testsubstanzen(Sub): unterschiedliche Konzentrationen von Influx in Wasser mit K1=0.001

K2=0.01

K3=0.1

K4=1 ug Echinacosid pro ml Inkubationsansatz

(x=Mittelwert, s=Standardabweichung, p=Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit -: p>0.05

p1: p<0.05

p2: p<0.01

p3: p<0.005)

| Sub                                       | Tiernummern (I-IX) |       |       |       |       |       |       |       |       | x      | s    | p  |
|-------------------------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------|----|
|                                           | I                  | II    | III   | IV    | V     | VI    | VII   | VIII  | IX    |        |      |    |
| Serumpoolzusatz: Leghorn                  |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                        | +0.09              | +0.04 | +0.06 | +0.04 | +0.07 | +0.16 | +0.12 | -0.10 | +0.12 | +0.067 | .074 | -  |
| K2                                        | +0.26              | +0.04 | +0.08 | +0.23 | +0.04 | +0.13 | +0.16 | -0.02 | +0.07 | +0.110 | .093 | -  |
| K3                                        | +0.08              | +0.12 | +0.17 | +0.24 | +0.18 | +0.25 | +0.24 | -0.01 | +0.18 | +0.161 | .086 | p1 |
| K4                                        | +0.47              | +0.19 | +0.11 | +0.27 | +0.25 | +0.14 | -0.03 | -0.01 | +0.16 | +0.172 | .152 | p1 |
| Serumpoolzusatz: normogammaglobulinämisch |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                        | +0.19              | +0.13 | +0.04 | -0.02 | +0.01 | +0.14 | +0.10 | +0.04 | +0.16 | +0.088 | .073 | -  |
| K2                                        | +0.26              | +0.18 | +0.03 | +0.14 | -0.15 | +0.08 | +0.12 | +0.04 | +0.10 | +0.089 | .114 | -  |
| K3                                        | +0.29              | +0.27 | +0.07 | +0.12 | +0.05 | +0.32 | +0.21 | +0.11 | +0.24 | +0.187 | .101 | p1 |
| K4                                        | +0.36              | +0.22 | +0.07 | -0.01 | -0.10 | +0.08 | -0.18 | +0.21 | +0.17 | +0.091 | .170 | -  |
| Serumpoolzusatz: dysgammaglobulinämisch   |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                        | +0.09              | -0.13 | +0.08 | -0.14 | +0.13 | +0.05 | +0.08 | +0.06 | -0.05 | +0.019 | .100 | -  |
| K2                                        | +0.16              | +0.16 | +0.12 | -0.03 | +0.13 | +0.06 | +0.11 | +0.05 | -0.01 | +0.083 | .070 | -  |
| K3                                        | +0.33              | +0.13 | +0.09 | -0.13 | +0.20 | +0.13 | +0.17 | +0.07 | -0.11 | +0.098 | .145 | -  |
| K4                                        | -0.08              | -0.29 | -0.05 | -0.42 | -0.16 | +0.06 | -0.16 | -0.32 | -0.14 | -0.173 | .148 | -  |
| Serumpoolzusatz: agammaglobulinämisch     |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| K1                                        | +0.20              | -0.02 | +0.16 | -0.15 | +0.03 | -0.02 | +0.19 | +0.03 | +0.18 | +0.067 | .122 | -  |
| K2                                        | +0.07              | +0.19 | +0.21 | +0.03 | +0.05 | +0.04 | +0.14 | +0.28 | +0.16 | +0.130 | .088 | -  |
| K3                                        | +0.13              | +0.19 | +0.21 | +0.04 | +0.09 | +0.07 | +0.15 | +0.12 | +0.13 | +0.126 | .054 | -  |
| K4                                        | +0.21              | +0.14 | +0.20 | -0.12 | +0.13 | +0.04 | +0.17 | -0.07 | +0.11 | +0.090 | .117 | -  |

Tabelle 6:

Phagozytoseraten der einzelnen Hühnergruppen - absolute NaCl-Kontrollwerte (Substanzversuch):

Serumpoolzusätze (Ser): LEG=Leghorn,  
 NOR=normogammaglobulinämisch  
 DYS=dysgammaglobulinämisch  
 AGA=agammaglobulinämisch

(x=Mittelwert, s=Standardabweichung)

## Leghorn-Tiere:

| Ser | Tiernummern (I-IX) |      |      |      |      |      |      |      |      |       |      |  |
|-----|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|--|
|     | I                  | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | IX   |       |      |  |
| LEG | 1.31               | 1.45 | 1.12 | 1.07 | 1.32 | 0.99 | 1.00 | 0.95 | 1.31 | 1.169 | .181 |  |
| NOR | 1.35               | 1.46 | 1.18 | 1.15 | 1.15 | 1.16 | 0.84 | 0.94 | 1.48 | 1.190 | .216 |  |
| DYS | 1.02               | 0.87 | 0.58 | 0.60 | 0.49 | 0.28 | 0.51 | 0.54 | 1.14 | 0.670 | .279 |  |
| AGA | 0.87               | 0.95 | 0.65 | 0.55 | 0.51 | 0.47 | 0.56 | 0.41 | 0.83 | 0.644 | .193 |  |

## normogammaglobulinämische Tiere:

| Ser | Tiernummern (I-IX) |      |      |      |      |      |      |      |      | x     | s    |
|-----|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|
|     | I                  | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | IX   |       |      |
| LEG | 1.47               | 1.19 | 1.15 | 1.20 | 1.10 | 1.14 | 1.01 | 1.16 | 1.05 | 1.163 | .131 |
| NOR | 1.33               | 1.00 | 1.05 | 1.12 | 1.20 | 1.18 | 1.13 | 1.08 | 1.11 | 1.133 | .096 |
| DYS | 0.74               | 0.70 | 0.57 | 0.32 | 0.69 | 0.45 | 0.72 | 0.68 | 0.51 | 0.598 | .145 |
| AGA | 0.73               | 0.56 | 0.56 | 0.59 | 0.63 | 0.72 | 0.64 | 0.57 | 0.47 | 0.608 | .082 |

## dysgammaglobulinämische Tiere:

| Ser | Tiernummern (I-IX) |      |      |      |      |      |      |      |      | x     | s    |
|-----|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|
|     | I                  | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | IX   |       |      |
| LEG | 1.20               | 1.22 | 0.98 | 1.08 | 1.27 | 1.18 | 1.15 | 1.26 | 1.30 | 1.182 | .101 |
| NOR | 1.25               | 1.19 | 0.87 | 1.09 | 1.18 | 1.25 | 1.23 | 1.15 | 1.22 | 1.159 | .120 |
| DYS | 0.41               | 0.41 | 0.29 | 0.66 | 0.51 | 0.75 | 0.45 | 0.70 | 0.47 | 0.517 | .154 |
| AGA | 0.56               | 0.54 | 0.29 | 0.49 | 0.49 | 0.60 | 0.50 | 0.69 | 0.50 | 0.518 | .108 |

## agammaglobulinämische Tiere:

| Ser | Tiernummern (I-IX) |      |      |      |      |      |      |      |      | x     | s    |
|-----|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|
|     | I                  | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | IX   |       |      |
| LEG | 1.86               | 1.07 | 1.36 | 1.25 | 1.13 | 1.57 | 1.70 | 1.06 | 1.17 | 1.352 | .292 |
| NOR | 1.71               | 0.95 | 1.24 | 1.29 | 1.05 | 1.39 | 1.83 | 0.97 | 1.45 | 1.320 | .311 |
| DYS | 1.06               | 0.54 | 0.73 | 0.82 | 0.68 | 0.76 | 0.99 | 1.09 | 1.01 | 0.853 | .192 |
| AGA | 0.71               | 0.76 | 0.66 | 1.04 | 0.74 | 1.04 | 0.98 | 0.76 | 0.93 | 0.847 | .150 |

Tabelle 7:

Phagozytoseraten der Leghorn-Hühner (Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten) bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (Substanzendversuch):

Testsubstanzen(Sub): A=Alkohol

EW=Echinacea in Wasser

EA=Echinacea in Alkohol

IW=Influx in Wasser

IA=Influx in Alkohol

(x=Mittelwert, s=Standartabweichung, p=Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit -: p>0.05

p1: p<0.05

p2: p<0.01

p3: p<0.005)

| Sub                                       | Tiernummern (I-IX) |       |       |       |       |       |       |       |       | x      | s    | p  |
|-------------------------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------|----|
|                                           | I                  | II    | III   | IV    | V     | VI    | VII   | VIII  | IX    |        |      |    |
| Serumpoolzusatz: Leghorn                  |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | + .05              | - .16 | + .16 | + .14 | - .13 | + .13 | + .09 | + .33 | + .14 | + .083 | .150 | -  |
| EW                                        | + .01              | - .01 | + .02 | + .17 | - .10 | + .03 | + .08 | + .33 | + .04 | + .063 | .123 | -  |
| EA                                        | + .25              | + .09 | - .17 | + .16 | - .39 | + .08 | + .31 | + .50 | + .17 | + .111 | .262 | -  |
| IW                                        | + .15              | - .08 | + .04 | + .17 | +/-0  | + .41 | + .31 | + .30 | + .20 | + .167 | .160 | p1 |
| IA                                        | + .24              | + .31 | + .12 | + .13 | + .18 | + .65 | + .35 | + .71 | + .16 | + .317 | .221 | p3 |
| Serumpoolzusatz: normogammaglobulinämisch |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | + .01              | - .08 | - .04 | + .02 | + .05 | - .18 | + .30 | + .36 | - .06 | + .042 | .177 | -  |
| EW                                        | +/-0               | + .04 | + .05 | - .01 | - .19 | - .12 | + .13 | + .30 | - .06 | + .058 | .130 | -  |
| EA                                        | + .04              | - .06 | + .02 | - .06 | + .11 | - .13 | + .39 | + .60 | + .01 | + .102 | .239 | -  |
| IW                                        | + .06              | - .12 | + .05 | + .13 | + .15 | - .07 | + .32 | + .58 | + .04 | + .127 | .212 | -  |
| IA                                        | + .10              | + .33 | + .22 | + .22 | - .08 | + .29 | + .42 | + .54 | + .13 | + .241 | .183 | p1 |
| Serumpoolzusatz: dysgammaglobulinämisch   |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | - .24              | - .14 | - .12 | - .07 | + .19 | + .10 | + .14 | - .04 | - .24 | - .047 | .159 | -  |
| EW                                        | - .19              | + .06 | + .20 | + .06 | - .01 | + .15 | + .05 | - .09 | - .12 | + .012 | .127 | -  |
| EA                                        | - .16              | - .07 | - .04 | - .10 | + .11 | + .18 | + .03 | - .09 | - .16 | - .033 | .118 | -  |
| IW                                        | - .10              | - .12 | + .02 | + .05 | + .29 | + .28 | + .21 | + .25 | - .09 | + .088 | .171 | -  |
| IA                                        | - .14              | - .11 | + .11 | - .01 | + .05 | + .24 | + .12 | + .65 | - .24 | + .074 | .262 | -  |
| Serumpoolzusatz: agammaglobulinämisch     |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | + .07              | - .15 | - .08 | + .05 | + .16 | - .04 | + .24 | + .08 | + .03 | + .040 | .119 | -  |
| EW                                        | - .04              | - .01 | - .13 | + .08 | +/-0  | + .28 | + .08 | + .24 | + .04 | + .060 | .131 | -  |
| EA                                        | +/-0               | + .02 | + .05 | + .07 | - .08 | + .13 | + .37 | + .21 | + .07 | + .093 | .132 | -  |
| IW                                        | + .07              | - .12 | + .16 | + .01 | + .01 | + .14 | + .20 | + .35 | + .02 | + .093 | .137 | -  |
| IA                                        | + .28              | + .25 | - .02 | + .04 | - .10 | + .10 | + .31 | + .39 | + .07 | + .147 | .167 | -  |

Tabelle 8:

Phagozytoseraten der normogammaglobulinämischen Hühner  
(Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten) bei unterschiedlichen  
Serumpoolzugaben (Substanzendversuch):

Testsubstanzen(Sub): A=Alkohol

EW=Echinacea in Wasser

EA=Echinacea in Alkohol

IW=Influenza in Wasser

IA=Influenza in Alkohol

(x=Mittelwert, s=Standardabweichung, p=Signifikanz zu den  
entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit -:  $p > 0.05$

p1:  $p < 0.05$

p2:  $p < 0.01$

p3:  $p < 0.005$ )

| Sub                                       | Tiernummern (I-IX) |       |       |       |       |       |       |       |       | x      | s    | p  |
|-------------------------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------|----|
|                                           | I                  | II    | III   | IV    | V     | VI    | VII   | VIII  | IX    |        |      |    |
| Serumpoolzusatz: Leghorn                  |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | +0.01              | -0.14 | +0.16 | -0.03 | +0.06 | -0.04 | +0.04 | +0.06 | +0.25 | +0.041 | .114 | -  |
| EW                                        | +0.08              | +0.06 | +0.14 | +0.07 | +0.06 | +0.12 | +0.04 | +0.09 | -0.04 | +0.069 | .051 | -  |
| EA                                        | +0.08              | +/-0  | +0.20 | +0.08 | +0.06 | +0.08 | +0.30 | +0.16 | -0.01 | +0.106 | .099 | -  |
| IW                                        | +0.44              | -0.04 | +0.19 | +0.14 | +0.18 | +0.25 | +0.27 | -0.04 | +0.03 | +0.158 | .157 | -  |
| IA                                        | +0.65              | +/-0  | +0.17 | +0.20 | +0.21 | +0.11 | +0.29 | +0.24 | +0.16 | +0.226 | .180 | p1 |
| Serumpoolzusatz: normogammaglobulinämisch |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | -0.01              | +0.03 | +0.07 | -0.05 | -0.02 | -0.09 | -0.01 | +0.19 | +0.18 | +0.032 | .098 | -  |
| EW                                        | +0.30              | +0.31 | +0.26 | +0.11 | -0.08 | -0.06 | -0.08 | +0.28 | +0.04 | +0.120 | .171 | -  |
| EA                                        | +0.23              | +0.26 | +0.21 | +0.21 | +0.10 | +/-0  | +0.06 | +0.06 | +0.02 | +0.128 | .100 | p1 |
| IW                                        | +0.43              | +0.03 | +0.09 | +0.10 | +/-0  | +0.02 | +0.21 | +0.20 | +/-0  | +0.120 | .141 | -  |
| IA                                        | +0.45              | +0.32 | +0.24 | +0.25 | +0.22 | +0.02 | +0.19 | +0.30 | +0.22 | +0.246 | .115 | p3 |
| Serumpoolzusatz: dysgammaglobulinämisch   |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | -0.16              | -0.25 | +0.01 | +0.28 | -0.15 | +0.16 | -0.06 | -0.06 | -0.11 | -0.038 | .166 | -  |
| EW                                        | +0.11              | -0.08 | +0.07 | -0.03 | -0.04 | +0.31 | -0.14 | -0.17 | -0.17 | -0.016 | .157 | -  |
| EA                                        | -0.11              | +0.08 | -0.20 | +0.42 | -0.09 | +0.23 | -0.11 | -0.21 | -0.27 | -0.029 | .228 | -  |
| IW                                        | +0.15              | -0.11 | +0.02 | +0.36 | -0.12 | +0.15 | -0.17 | -0.13 | -0.01 | +0.016 | .175 | -  |
| IA                                        | +0.28              | -0.15 | -0.03 | +0.41 | -0.48 | +0.39 | -0.13 | -0.15 | -0.01 | +0.014 | .294 | -  |
| Serumpoolzusatz: agammaglobulinämisch     |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | +0.02              | +0.10 | -0.09 | -0.09 | -0.04 | -0.09 | +0.01 | +0.13 | +0.05 | +/-0   | .084 | -  |
| EW                                        | +0.09              | +0.07 | +/-0  | -0.12 | -0.06 | +0.16 | -0.12 | -0.02 | +0.03 | +0.003 | .095 | -  |
| EA                                        | -0.13              | -0.07 | -0.15 | +0.06 | -0.16 | -0.06 | -0.08 | -0.09 | +0.07 | -0.068 | .083 | -  |
| IW                                        | +0.06              | +0.08 | -0.12 | -0.04 | -0.07 | -0.17 | -0.07 | -0.06 | +0.03 | -0.040 | .083 | -  |
| IA                                        | +0.20              | +0.19 | +0.12 | +/-0  | -0.16 | +0.35 | +0.27 | +/-0  | +0.11 | +0.120 | .156 | -  |

Tabelle 9:

Phagozytoserten der dysgammaglobulinämischen Hühner (Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten) bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (Substanzendversuch):

Testsubstanzen(Sub): A=Alkohol

EW=Echinacea in Wasser

EA=Echinacea in Alkohol

IW=Influenza in Wasser

IA=Influenza in Alkohol

(x=Mittelwert, s=Standardabweichung, p=Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit - :  $p > 0.05$

p1:  $p < 0.05$

p2:  $p < 0.01$

p3:  $p < 0.005$ )

| Sub                                       | Tiernummern (I-IX) |       |       |       |       |       |       |       |       | x      | s    | p  |
|-------------------------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------|----|
|                                           | I                  | II    | III   | IV    | V     | VI    | VII   | VIII  | IX    |        |      |    |
| Serumpoolzusatz: Leghorn                  |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | + .20              | + .05 | +/-0  | - .07 | - .04 | + .10 | + .47 | - .06 | - .17 | + .053 | .189 | -  |
| EW                                        | + .07              | + .10 | + .02 | +/-0  | + .01 | + .09 | + .04 | - .14 | - .02 | + .019 | .072 | -  |
| EA                                        | + .03              | + .24 | + .16 | + .05 | + .10 | + .01 | + .01 | - .07 | - .05 | + .053 | .099 | -  |
| IW                                        | + .15              | + .04 | + .22 | + .15 | + .07 | - .06 | - .04 | + .05 | + .09 | + .074 | .091 | -  |
| IA                                        | + .28              | + .26 | + .20 | + .11 | + .25 | + .28 | + .10 | + .26 | + .20 | + .216 | .069 | p3 |
| Serumpoolzusatz: normogammaglobulinämisch |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | + .25              | + .06 | + .28 | + .03 | + .03 | +/-0  | + .11 | + .05 | - .01 | + .089 | .106 | -  |
| EW                                        | + .19              | + .03 | + .19 | +/-0  | + .06 | - .04 | - .07 | + .11 | + .01 | + .053 | .093 | -  |
| EA                                        | + .16              | + .08 | + .34 | + .10 | + .12 | - .01 | - .03 | - .03 | - .01 | + .087 | .115 | -  |
| IW                                        | - .01              | - .02 | + .18 | + .07 | + .13 | + .04 | + .02 | + .13 | + .21 | + .083 | .083 | -  |
| IA                                        | + .17              | + .13 | + .09 | + .21 | + .29 | + .03 | + .01 | + .30 | + .19 | + .158 | .103 | p1 |
| Serumpoolzusatz: dysgammaglobulinämisch   |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | + .14              | + .23 | + .34 | - .14 | +/-0  | - .11 | + .14 | - .40 | - .13 | + .007 | .228 | -  |
| EW                                        | +/-0               | + .08 | + .24 | + .02 | + .06 | - .16 | + .21 | - .06 | + .14 | + .059 | .127 | -  |
| EA                                        | + .05              | + .21 | + .15 | + .07 | + .06 | - .03 | - .02 | - .09 | + .17 | + .063 | .100 | -  |
| IW                                        | + .17              | + .33 | + .22 | + .02 | + .17 | - .07 | + .03 | + .15 | + .39 | + .157 | .148 | p1 |
| IA                                        | + .02              | + .30 | + .11 | + .05 | + .09 | - .12 | + .01 | + .26 | + .19 | + .101 | .132 | -  |
| Serumpoolzusatz: agammaglobulinämisch     |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | - .07              | + .04 | + .19 | - .06 | +/-0  | - .03 | + .21 | - .29 | - .11 | - .013 | .152 | -  |
| EW                                        | - .16              | + .05 | + .30 | + .07 | + .06 | + .01 | + .17 | - .04 | - .11 | + .039 | .140 | -  |
| EA                                        | + .03              | - .01 | + .11 | + .06 | + .03 | + .02 | - .07 | - .10 | + .05 | + .013 | .065 | -  |
| IW                                        | - .17              | + .05 | + .12 | + .08 | + .04 | - .11 | - .09 | - .01 | + .18 | + .010 | .115 | -  |
| IA                                        | - .01              | + .13 | - .04 | + .07 | + .04 | - .01 | - .17 | + .06 | + .11 | + .020 | .091 | -  |

Tabelle 10:

Phagozytoseraten der agammaglobulinämischen Hühner (Differenz zu den NaCl-Kontrollwerten) bei unterschiedlichen Serumpoolzusätzen (Substanzversuch):

Testsubstanzen(Sub): A=Alkohol

EW=Echinacea in Wasser

EA=Echinacea in Alkohol

IW=Influenza in Wasser

IA=Influenza in Alkohol

(x=Mittelwert, s=Standardabweichung, p=Signifikanz zu den entsprechenden NaCl-Kontrollwerten mit -:  $p > 0.05$

p1:  $p < 0.05$

p2:  $p < 0.01$

p3:  $p < 0.005$ )

| Sub                                       | Tiernummern (I-IX) |       |       |       |       |       |       |       |       | x      | s    | p  |
|-------------------------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------|----|
|                                           | I                  | II    | III   | IV    | V     | VI    | VII   | VIII  | IX    |        |      |    |
| Serumpoolzusatz: Leghorn                  |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | + .12              | + .07 | + .09 | + .13 | + .41 | - .01 | - .55 | - .04 | + .15 | + .041 | .256 | -  |
| EW                                        | + .05              | + .06 | + .22 | + .08 | + .37 | - .12 | - .26 | + .16 | + .12 | + .076 | .183 | -  |
| EA                                        | - .01              | + .28 | + .32 | + .07 | + .41 | - .07 | - .02 | - .01 | + .23 | + .133 | .178 | -  |
| IW                                        | - .08              | + .46 | + .14 | + .27 | + .37 | - .13 | - .09 | + .13 | + .21 | + .142 | .210 | -  |
| IA                                        | + .60              | + .33 | + .59 | + .60 | + .53 | + .24 | + .11 | + .34 | + .33 | + .408 | .179 | p1 |
| Serumpoolzusatz: normogammaglobulinämisch |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | - .03              | + .28 | + .05 | - .02 | + .52 | +/-0  | - .38 | + .17 | +/-0  | + .066 | .247 | -  |
| EW                                        | + .21              | + .40 | + .24 | + .15 | + .62 | + .03 | - .39 | + .28 | - .06 | + .164 | .287 | -  |
| EA                                        | + .18              | + .16 | + .24 | + .10 | + .70 | + .01 | - .24 | + .21 | - .05 | + .146 | .257 | -  |
| IW                                        | + .08              | + .35 | + .37 | + .11 | + .53 | + .16 | - .37 | + .31 | + .01 | + .172 | .262 | -  |
| IA                                        | + .12              | + .36 | + .36 | + .56 | + .52 | + .19 | - .16 | + .36 | - .08 | + .248 | .251 | -  |
| Serumpoolzusatz: dysgammaglobulinämisch   |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | - .18              | + .07 | - .19 | - .29 | + .04 | + .20 | - .02 | - .30 | + .02 | - .072 | .174 | -  |
| EW                                        | - .12              | + .14 | + .12 | - .15 | + .56 | + .14 | - .09 | - .14 | + .09 | + .061 | .225 | -  |
| EA                                        | - .01              | + .29 | - .08 | - .27 | + .25 | + .08 | - .14 | - .44 | - .06 | - .042 | .233 | -  |
| IW                                        | +/-0               | + .06 | - .04 | - .01 | + .64 | + .21 | + .16 | - .17 | - .14 | + .079 | .244 | -  |
| IA                                        | - .08              | + .17 | + .19 | - .16 | + .41 | + .21 | + .03 | - .17 | - .05 | + .061 | .196 | -  |
| Serumpoolzusatz: agammaglobulinämisch     |                    |       |       |       |       |       |       |       |       |        |      |    |
| A                                         | + .13              | - .12 | - .09 | - .37 | + .02 | - .05 | + .05 | + .07 | - .06 | - .047 | .146 | -  |
| EW                                        | + .10              | - .03 | + .10 | - .16 | + .10 | - .19 | - .13 | - .02 | + .01 | - .024 | .114 | -  |
| EA                                        | + .08              | - .01 | + .15 | - .11 | + .07 | - .03 | - .26 | + .03 | - .07 | - .017 | .121 | -  |
| IW                                        | + .15              | - .05 | + .16 | - .21 | + .21 | - .11 | + .16 | + .13 | + .16 | + .067 | .150 | -  |
| IA                                        | + .32              | - .03 | + .29 | - .19 | + .50 | - .18 | + .31 | + .28 | + .22 | + .169 | .243 | -  |

## 8.Literaturverzeichnis:

- Abo, T., S. Sugawara, A. Amenomori, H. Itoh, H. Rikiishi, I. Moro und K. Kumagai  
Selective Phagocytosis of Gram-positive Bacteria and Interleukin 1-like Factor Production by a Subpopulation of Large Granular Lymphocytes  
J. Immunol., 136: 3189-3197 (1986)
- Al-Ibrahim, M.S., R. Chandra, R. Kishora, F.T. Valentine und H.S. Lawrence  
A Micromethod for Evaluating the Phagocytic Activity of Human Macrophages by Ingestion of Radio-labeled Polystyrene Partikels  
J. Immunol. Methods, 10: 207-218 (1976)
- Allen, R.C.  
Evaluation of Serum Opsonic Capacity by Quantitating the Initial Chemoluminescent Response from Phagocytating Polymorphonuclear Leukocytes  
Infect. Immun., 15: 828-833 (1977)
- Awadhiya, R.P.  
Demonstration of the Phagocytic Activity of Chicken Thrombocytes Using Colloidal Carbon  
Research in Vet. Science, 29: 120 (1980)
- Begemann, H.  
Praktische Hämatologie  
Georg Thieme; Stuttgart, New York (1982)
- Benedict, A.A., H.A. Abplanalp, L.W. Pollard and L.Q. Tam  
Inherited Immundeficiency in Chickens: a Modell for Common Variable Hypogammaglobulinemia in Man  
Adv. Exp. Med. Biol., 88: 197 (1977)
- Berthold, F.  
Isolation of Human Monocytes by Ficoll Density Gradient Centrifugation  
Blut, 43: 367 (1981)
- Besterman, J.M. und R.B. Low  
Endocytosis: a Review of Mechanisms and Plasma Membrane Dynamics  
Biochem. J., 210: 1-13 (1983)
- Beuscher, N.  
Über die medikamentöse Beeinflussung zellulärer Resistenzmechanismen im Tierversuch: Aktivierung von Peritonealmakrophagen durch pflanzliche Reizkörper  
Arzneim.-Forsch., 32: 134 (1982)
- Beuscher, N., H. Beuscher, B. Otto und B. Schäfer  
Über die medikamentöse Beeinflussung zellulärer und humoraler Resistenzmechanismen im Tierversuch: In-Vitro-Untersuchungen an Peritonealleukozyten und Seren der Ratte  
Arzneim.-Forsch., 27: 1655 (1977)

- Beuscher, N., H. Beuscher und B. Schäfer  
Über die medikamentöse Beeinflussung zellulärer  
Resistenzmechanismen im Tierversuch: Untersuchungen an  
Granulozyten aus entzündlichen Peritonealexsudaten der  
Ratte  
Arzneim.-Forsch., 28: 2242 (1978)
- Biozzi, G., B. Benacerraf und B.N. Halpern  
Quantitative Study of the Granulopoietic Activity of the  
Reticulo-endothelial System. II: A Study of the  
Kinetics of the Granulopoietic Activity of the R.E.S. in  
Relation to the Dose of Carbon Injected. Relationship  
between the Weight of the Organs and their Activity  
Brit. J. Exp. Path., 34: 441 (1953)
- Blumenstock, F., T.M. Saba, P. Weber und E. Cho  
Purification and Biochemical Characterisation of a  
Macrophage Stimulating  $\alpha$ 2-globulin Opsonic Protein  
J. Reticuloendothel. Soc., 19: 157-172 (1976)
- Bohner, H.J.  
Biologische Halbwertszeit und Umsatz von Immunglobulin-  
G normaler und dysgammaglobulinämischer Haushühner  
Vet. Med. Diss., München (1977)
- Boxer, L.A., R.L. Baehner und J. Davis  
The Effect of 2-Deoxyglucose on Guinea Pig  
Polymorphonuclear Leukocyte Phagocytosis  
J. Cell Physiol., 91: 89-102 (1977)
- Brandt, L.  
Studies on the Phagocytic Activity of Neutrophil  
Leucocytes  
Scand. J. Haematol. Suppl. 2 (1967)
- Brüggemann, J., B. Friedrich und U. Lösch  
Vergleichende Bestimmung der Immunglobulin-Spiegel  
genuin dysgammaglobulinämischer und "hormonell  
bursektomierter" Hühner  
Z. Tierphysiol., Tierern. und Futtermittelkde, 24: 317  
(1969)
- Brüggemann, J., M. Merckenschlager, B. Kirchner und U. Lösch  
Eine erbliche Hypo- und Dysgammaglobulinämie beim  
Haushuhn  
Naturwissenschaften, 54: 97 (1967)
- Buschmann, H., H. Kräusslich und A. Radzikowski  
Variation of the Phagocytic Activity as Measured by the  
 $^{14}\text{C}$ -Glucose Oxidation Rate in Whole Blood of Pigs from  
Several Breeds  
Z. Immun.-Forsch., 147: 148-154 (1974)
- Cannarozzi, N.A. und S.E. Malawista  
Phagocytosis of Human Blood Leukocytes Measured by the  
Uptake of  $^{125}\text{I}$ -labeled Human Serum Albumin: Inhibitory  
and Stimulatory Effects of Cytochalasin B Yale  
J. Biol. Med., 46: 177-189 (1973)

- Chang, C.  
Refractory Phagocytosis by Chicken Thrombocytes during  
Aflatoxicosis  
Poultry Science, 58: 559 (1979)
- Cline, M.J.  
The White Cell  
Commonwealth Fund Book; Cambridge, Massachusetts (1975)
- Constantopoulos, A. und V.A. Najjar  
The Requirement for Membrane Sialic Acid in the  
Stimulation of Phagocytosis by the Natural  
Tetrapeptide, Tuftsin  
J. Biol. Chem., 248: 3819-3822 (1973)
- Cox, J.P. und M.L. Karnovsky  
The Depression of Phagocytosis by Exogenous Cyclic  
Nucleotides, Prostaglandins, and Theophylline  
J. Cell Biol., 59: 480-490 (1973)
- Dean, R.T., W. Jessup  
Mononuclear Phagocytes: Physiology and Pathology. In:  
Research Monographs in Cell and Tissue Physiology,  
herausgeg. von Dingle und Gordon  
Elsevier; Amsterdam, New York; Oxford (1985)
- DeChatelet, L.R., M.R. Cooper und C.E. McCall  
Dissociation by Colchicine of the Hexose Monophosphat  
Shunt Activation from the Bactericidal Activity of the  
Leukocyte  
Infect. Immun., 3: 66-72 (1971)
- Dhodapkar, B.S., J.L. Vegad and G.N. Kolte  
Demonstration of the Phagocytic Activity of Chicken  
Basophils in the Reserved Arthus Reaction Using  
Colloidal Carbon  
Research in Vet. Science, 33: 377 (1982)
- Fiedler, H., U. Lösch and K. Hala  
Establishment of a B-compatible Chicken Line with  
Normogammaglobulinemia and Dysgammaglobulinemia  
Fol. Biol., 26: 17 (1980)
- Fiedler, H., U. Lösch, D. Herlyn und G. Hoffmann-Fezer  
Die Auswirkungen neonataler Cyclophosphamid-  
verabreichung (Cy), chirurgischer Bursektomie (Bx) und  
kombinierter Behandlung (Cy+Bx) auf die immunologische  
Leistungsfähigkeit von Küken in verschiedenen Alters-  
stufen  
Zbl. Vet. Med. B, 24: 609 (1977)
- Fiedler, H., M. Scheu, I. Kühlmann-Rabens und U. Lösch  
Kinetics of Delayed-type-hypersensitivity (DTH)  
Reactions and Ig Levels in FCA-injected Dysgamma-  
globulinemic B12 Chickens  
Immunobiol., 158: 293 (1981)

- Fraschini, F., F. Scaglione, F. Ferrara, O. Marelli, P.C. Brage und F. Teodori  
Evaluation of the Immunostimulating Activity of Erythromycin in Man  
Chemotherapy, 32: 286-290 (1986)
- Gigli, I., B.U. Wintroub und E.J. Goetzl  
A Phagocytosis-enhancing Factor in Human Plasma  
Immunology 30: 915-924 (1976)
- Glick, B., K. Sato and F. Cohenour  
Comparison of the Phagocytic Ability of Normal and Bursectomized Birds  
J. Reticuloendothel. Soc., 1: 442-449 (1964)
- Grund, S. und G. Rossi  
Elektronenmikroskopische Untersuchung zur Phagozytose von Candidazellen in Hühnermakrophagen  
Mykosen, 24: 329-348 (1981)
- Guarneri, J.J. and G.A. Laurenzi  
Effect of Alcohol on the Mobilization of Alveolar Macrophages  
J. Lab. Clin. Med., 72: 40 (1968)
- Hällgren, R. und G. Stalenheim  
Quantification of Phagocytosis by Human Neutrophils. The Use of Radio-labeled Staphylococcal Protein A-IgG Complexes  
Immunology, 30: 755-762 (1976)
- Hamburger, H.J.  
Die Technik des Arbeitens mit Phagozyten zu biologischen Zwecken. In: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, herausgeg. von Abderhalden  
Urban&Schwarzenberg, Berlin (1927)
- Handin, R.I. und T.P. Stossel  
Phagocytosis of Antibody-coated Platelets by Human Granulocytes  
New Engl. J. Med., 290: 989-993 (1974)
- Herlyn, D., H.J. Böhner und U. Lösch  
IgG Turnover in Dysgammaglobulinemic Chickens  
Z. Physiol. Chem., 358: 1169 (1977)
- Ignarro, L.J. und S.Y. Cech  
Bidirectional Regulation of Lysosomal Enzyme Secretion and Phagocytosis in Human Neutrophils by Guanosine 3',5'-Monophosphate and Adenosine 3',5'-Monophosphate  
Proc. Soc. Exp. Biol., 151: 448-452 (1976)
- Keusch, G.T., S.D. Douglas, D. Mildvan und S.Z. Hirschman  
<sup>14</sup>C-Glucose Oxidation in Whole Blood: A Clinical Assay for Phagocyte Dysfunction  
Infect. Immun., 5: 414 (1972)

- Klebanoff S.J. und R.A. Clark  
Iodination by Human Polymorphonuclear Leukocytes: A Re-evaluation  
J. Lab. Clin. Med., 89: 675-686 (1977)
- Klebanoff S.J. and R.A. Clark  
The Neutrophil: Function and Clinical Disorder  
North-Holland; Amsterdam, New York, Oxford (1978)
- Klockers, M. und P. Roberts  
Stimulation of Phagocytosis by Human Lysozyme.  
Acta Haemat., 55: 289-295 (1976)
- Klump, N.  
In vivo Untersuchungen zur Wirkung von Influenza<sup>A</sup> bzw. Alkohol auf das Abwehrsystem verschiedener Hühnerlinien nach oraler Verabreichung  
Vet. Med. Diss., Universität München (1986)
- Kvarstein, B.  
The Effect of Temperature, Metabolic Inhibitors, and EDTA on Phagocytosis of Polystyrene Latex Particles by Human Leukocytes  
Scand. J. Clin. Lab. Invest., 24: 271-277 (1969)
- Lancaster, M.G. und F. Allison  
Studies on the Pathogenesis of Acute Inflammation. VII  
The Influence of Osmolality upon the Phagocytic and Clumping Activity by Human Leukocytes  
Amer. J. Path., 49: 1185-1200 (1966)
- Lehrer, R.I.  
Effects of Colchicine and Chloramphenicol on the Oxidative Metabolism and Phagocytic Activity of Human Neutrophils  
J. Infect. Dis., 127: 40-48 (1973)
- Lehrer, R.I. und M.J. Cline  
Interaction of Candida albicans with Human Leukocytes and Serum  
J. Bacteriol., 98: 996-1004 (1969)
- Lemperle, G., S. Denk und M. Reichelt  
The Evaluation of Phagocytic Activity in Man by Means of a Lipid Clearance Test. In: The Reticuloendothelial System and Immune Phenomena  
Plenum Press; New York, London (1971)
- Lösch, U., W. Hartmann und G. Riedel  
Zur Antikörperproduktion dysgammaglobulinämischer Hühner. II. Präzipitierende Antikörper (Anti-HSA)  
Z. Immun.-Forsch., 143: 16 (1972)
- Lösch, U., I. Kühlmann-Rabens, W. Klumpner and H. Fiedler  
Course of Serum-Ig Concentrations in B12 Chickens of the UM Line  
Immunobiol., 158: 416 (1981)

- Maaloe, O.  
On the Relation between Alexin and Opsonin  
Einar Mungsgaard, Copenhagen (1946)
- Melawista, S.E. und P.T. Bodel  
The Dissociation by Colchicine of Phagocytosis from  
Increased Oxygen Consumption in Human Leukocytes  
J. Clin. Invest., 46: 786-796 (1967)
- Matsuo, Y., K. Sagawa, M. Morita, J. Minowada und M.M.  
Yokoyama  
Establishment of a Hairy Cell Leukemia Cell Line  
Carrying Tac Antigen and Phagocytic Activity with B-  
cell Characteristics  
J.N.C.I., 76: 207-216 (1986)
- Michell, R.H., S.J. Pancake, J. Noseworthy und M.L. Karnowsky  
Measurement of Rates of Phagocytosis. The Use of  
Cellular Monolayers  
J. Cell Biol., 40: 216-224 (1969)
- Micklenberg, I.D., R.K. Root und S.M. Wolff  
Leukocytic Function in Hypogammaglobulinemia  
J. Clin. Invest., 49: 1528-1538 (1970)
- Miya, F. und S. Marcus  
Effect of Humoral Factors on in Vitro Phagocytic and  
Cytopeptic Activities of normal and Immune Phagocytes  
J. Immunol., 86: 652-668 (1961)
- Möse, J.R.  
Zur Wirkung von Echinacin auf Phagozytoseaktivität und  
Natural Killer Cells  
Med. Welt, 34: 1463-1467 (1983)
- Mitani, K., F. Hyodoh, Y. Yawata und T. Kimoto  
A Lymphoblastoid Cell Line with High Phagocytic  
Activity Established from Peripheral Blood of a Patient  
with Chronic Myelocytic Leukemia in Blast Crisis  
Cell. Struct. Funct., 8: 149-160 (1983)
- Najjar, V.A.  
The Physiological Role of Gammaglobulin  
Advanc. Enzymol., 41: 129-178 (1974)
- Nielsen, H.  
Augmentation of Human Blood Monocyte Microbicidal  
Activity by RU 41740, a Glycoprotein Extract from  
Klebsiella pneumoniae  
Eur. J. Clin. Pharmacol., 30: 99-104 (1986)
- Nishioka, K., A. Constantopoulos, P.S. Satoh, W.M. Mitchell  
und V.A. Najjar  
Characteristics and Isolation of the Phagocytosis-  
stimulating Peptide, Tuftsin  
Biochem. Biophys. Acta, 310: 217-229 (1973)

- Nordenfeld, E.  
A Method for Studying Phagocytosis with  $^{51}\text{Cr}$ -labeled Yeast Cells  
*Acta path. microbiol. scand.*, 78: 247-252 (1970)
- Pillemer, L., L. Blum, I.H. Lepow, D.A. Ross, E.W. Todd und A.C. Wardlaw  
The Properdin System and Immunity. I. Demonstration and Isolation of a New Serum Protein, Properdin, and its Role in Immune Phenomena  
*Science*, 120: 279-285 (1954)
- Prunescu, P.  
Phagocytosis of Bacteria by Avian Red Cells  
*Naturwiss.*, 59: 41 (1972)
- Pschyrembel, W.  
Klinisches Wörterbuch  
Walter de Gruyter; Berlin, New York (1982)
- Quie, P.G., J.G. White, B. Holmes und R.A. Good  
In Vitro Bactericidal Capacity of Human Polymorphonuclear Leukocytes: Diminished Activity in Chronic Granulomatous Disease of Childhood  
*J. Clin. Invest.*, 46: 668-679 (1967)
- Ries, S.  
Untersuchungen zur Phagozytosefähigkeit von Hühner-thrombozyten in vitro  
*Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 90: 320 (1983)
- Rimland, D. and W.L. Hand  
The Effect of Ethanol on Adherence and Phagocytosis by Rabbit Alveolar Macrophages  
*J. Lab. Clin. Med.*, 95: 918 (1980)
- Rolle, M. und A. Mayr  
Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre  
Ferdinand Enke, Stuttgart (1978)
- Sanchez, A., J.L. Reeser, H.S. Lau, P.Y. Yahiku, R.E. Willard, P.J. McMillan, S.Y. Cho, A.R. Magie und U.D. Register  
Role of Sugars in Human Neutrophilic Phagocytosis  
*Am. J. Clin. Nutr.*, 26: 1180-1184 (1973)
- Sawyer, W.D.  
Interaction of Influenza Virus with Leukocytes and its Effect on Phagocytosis  
*J. Infect. Dis.*, 119: 541-556 (1969)
- Sbarra, A.J. und M.L. Karnovsky  
The Biochemical Basis of Phagocytosis. I Metabolic Changes during the Ingestion of Particles by Polymorphonuclear Leukocytes  
*J. Biol. Chem.*, 234: 1355-1362 (1959)

- Scheidtger, J.J.  
Une micromethode de l'immune-electrophorese  
Int. Arch. Allergy, 7: 103 (1955)
- Schopf, R.E., M. Trompeter, K. Bork und B. Morsches  
Effects of Ethanol and Acetaldehyde on Phagocytic Functions  
Arch. Dermatol. Res., 272: 131-137 (1985)
- Silverstein, S.C., R.M. Steinman und Z.A. Cohn  
Endocytosis  
Annu. Rev. Biochem., 46: 669 (1977)
- Smith, M.R., W.D. Perry, J.W. Berry und W.B. Wood  
Surface Phagocytosis in Vivo  
J. Immunol., 67: 71-74 (1951)
- Stimpel, M., A. Proksch, H. Wagner und M.-L. Lohmann-Matthes  
Macrophage Activation and Induction of Macrophage Cytotoxicity by Purified Polysaccharide Fractions from the Plant Echinacea purpurea  
Infection and Immunity, 46: 845 (1984)
- Stossel, T.P.  
Evaluation of Opsonic and Leukocytic Function with a Spectrophotometric Test in Patients with Infection and with Phagocytic Disorders  
Blood, 42: 121-130 (1973)
- Stossel, T.P., R.J. Mason, J. Hartwig und M. Vaughan  
Quantitative Studies of Phagocytosis by Polymorphonuclear Leukocytes: Use of Emulsions to Measure the Initial Rate of Phagocytosis  
J. Clin. Invest., 51: 615-624 (1972)
- Stünzi, H. und E. Weiss  
Allgemeine Pathologie  
Paul Parey; Berlin, Hamburg (1982)
- Suess, J., T. Bakacs und G. Ringwald  
Increased Number of Phagocytic Cells among the Peripheral Blood Lymphocytes of Mammary Tumor Patients  
Allerg. Immunol., 30: 183-187
- Tsan, M.F. und R.D. Berlin  
Effect of Phagocytosis on Membrane Transport of Nonelectrolytes  
J. Exp. Med., 134: 1016-1035 (1971)
- Tympner, K.D.  
Der immunbiologische Wirkungsnachweis von Pflanzenextrakten  
Zeitschrift für angewandte Phytotherapie, 5: 181 (1981)
- Van Oss, C.J. und J.M. Singer  
The Binding of Immune Globulins and Other Proteins by Polystyrene Latex Particles  
J. Reticuloendothel. Soc., 3: 29-40 (1966)

- Van Oss, C.J. und M.W. Stinson  
Immunoglobulins as Aspecific Opsonins. I. The Influence of Polyclonal and Monoclonal Immunoglobulins on the in Vitro Phagocytosis of Latex Particles and Staphylococci by Human Neutrophils  
J. Reticuloendothel. Soc., 8: 397-406 (1970)
- Verhoef, J., P.K. Peterson und P.G. Quie  
Kinetics of Staphylococcal Opsonisation, Attachment, Ingestion and Killing by Human Polymorphonuclear Leukocytes: A Quantitative Assay Using  $^3\text{H}$  Thymidine Labeled Bacteria  
J. Immunol. Methods, 14: 303-311 (1977)
- Vorlaender, K.O.  
Immunologie  
Georg Thieme; Stuttgart, New York (1983)
- Wagner, H.  
Arzneimittelpflanzen zur Steigerung der körpereigenen Immunabwehr  
Naturheilpraxis, 36: 256 (1983)
- Wagner, H.  
Neue Untersuchungen über die immunstimulierende Wirkung einiger pflanzlicher Homöopathika  
Biol. Med., 2: 399-407 (1985)
- Wagner, H., K. Jurcio, A. Doenicke, E. Rosenhuber und N. Berens  
Die Beeinflussung der Phagozytosefähigkeit von Granulozyten durch homöopathische Arzneipräparate  
Arzneim.-Forsch., 36: 1421-1425 (1986)
- Warr, G.A.  
A Macrophage Receptor for (Mannose/Glucoseamine)-Glycoproteins of Potential Importance in Phagocytic Activity  
Biochem. Biophys. Res. Commun., 93: 737-745 (1980)
- Watanabe, Y., S. Tawara, Y. Mine und H. Kikuchi  
Immunoactive Peptides, FK 156 and FK 565. IV. Activation of Mouse Macrophages  
J. Antibiot., 38: 1781-1787 (1985)
- Weissmann, G., P. Dukor und R.B. Zurier  
Effect of Cyclic AMP on Release of Lysosomal Enzymes from Phagocytes  
Nature, 231: 131-135 (1971)
- Wood, W.B.  
Phagocytosis, with Particular Reference to Encapsulated Bacteria  
Bact. Rev., 24: 41-49 (1960)

- Würdinger, M.  
Beeinflussung der humoralen Immunreaktionen durch  
Influenza und Echinacea angustifolia Extrakt  
Vet. Med. Diss., Universität München (1986)
- Zurier, R.B., G. Weissmann, S. Hoffstein, S. Kammermann und  
H.H. Tai  
Mechanisms of Lysosomal Enzyme Release from Human  
Leukocytes. II Effects of cAMP and cGMP, Autonomic  
Agonists, and Agents which Affect Microtubule Function  
J. Clin. Invest., 53: 297-309 (1974)



Herrn Prof. Dr. U. Losch danke ich für die Überlassung des  
Themas und die Betreuung.

Bei allen Mitarbeitern des Labors von Herrn Prof. Lösch,  
insbesondere L. Mantel, N. Göller und F. Meggendorfer,  
bedanke ich mich.

Für den zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz danke ich Herrn  
Prof. Dr. M. Merkschlager und Herrn Prof. Dr. H. Zucker



## Lebenslauf

26.02.1959      Geboren in Trier als Sohn des Vermessungs-  
technikers Andreas Reifenberg und seiner  
Ehefrau Hildegard, geborene Herrig

1965-1968      Volksschule Osburg

1968-1977      Max-Planck-Gymnasium, Trier

1977-1979      Studium der Medizin an der Universität  
Saarbrücken

1979-1984      Studium der Tiermedizin an der Universität  
München

29.11.1984      Staatsexamen

1985-1986      Anfertigung der vorliegenden Dissertation am  
Institut für Physiologie, Physiologische  
Chemie und Ernährungsphysiologie der Ludwig-  
Maximilians-Universität München









